Aus der Medizinischen Forschung des Hauptlaboratoriums
der Schering AG, Berlin
Direktor: Professor Dr. med. M. Kramer

Untersuchungen der foetotoxischen Wirkung von Sexualhormonen an Ratten

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Fritz Olaf Harder
aus Bad Polzin

1971

Aus der Medizinischen Forschung des Hauptlaboratoriums
der Schering AG, Berlin
Direktor: Professor Dr. med. M. Kramer

Untersuchungen der foetotoxischen Wirkung von Sexualhormonen an Ratten

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Fritz Olaf Harder
aus Bad Polzin

Referent: Professor Dr. med. Martin Kramer

Korreferent: Professor Dr. med. Jürgen Hammerstein

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 14. Mai 1971

Inhaltsverzeichnis

I.	EINLEITUNG	Seite	1
II.	MATERIAL und METHODE	Seite	15
III.	ERGEBNISSE	Seite	25
IV.	DISKUSSION	Seite	74
V.	ZUSAMMENFASSUNG	Seite	85
VI.	LITERATUR	Seite	87

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0056

I. EINLEITUNG

Für die Konzeption und den normalen Ablauf der Schwangerschaft sind die weiblichen Sexualhormone, Östrogene und Progesteron essentiell. Grundsätzlich wirken Östrogene und Progesteron synergistisch, jedoch liegt nur bei einem relativ eng begrenzten Verhältnis und einem Zusammenwirken beider Hormone in einer ganz bestimmten zeitlichen Sequenz(timing) ein Synergismus vor. Änderungen dieses hormonalen Gleichgewichtes (z.B. durch mangelnde oder exzessive Östrogenproduktion) müssen folglich zu Störungen im Schwangerschaftsablauf führen. Dies gilt auch für die exogene Zufuhr von Steroidhormonen, vor allem bei den Tierarten, bei denen die Steroidbiosynthese auch während der Schwangerschaft ausschließlich oder doch weitgehend im Ovar erfolgt und der hypothalamischen, hypophysären Kontrolle unterliegt. Dazu zählen alle üblichen Laboratoriumstiere wie Mäuse, Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen und Hamster. Es wurde jedoch auch diskutiert,

daß nach exogener Zufuhr von Steroidhormonen nicht nur das Östrogen/Progesteron-Gleichgewicht gestört wird, sondern darüberhinaus auch direkte Wirkungen auf den Foeten, Uterus und Placenta vorliegen und daß es aufgrund dieser Wirkungen zu einer Störung bzw. Hemmung der Schwangerschaft kommt. Im folgenden werden die Effekte von Östrogenen, Androgenen und Gestagenen auf einige Vorgänge nach der Befruchtung und den Schwangerschaftsablauf diskutiert.

Östrogene

Über die Schwangerschaftsunterbrechung nach Gaben von Östrogenen berichten erstmals 1926 gleichzeitig SMITH (1926) in einer Untersuchung an Ratten und PARKES & BELLERBY (1926) an Mäusen. Beide Untersuchungen wurden mit östrogenhaltigen Ovarextrakten durchgeführt. PARKES & BELLERBY fanden eine Abhängigkeit der wirksamen Dosis vom Zeitpunkt der Schwangerschaft. Im späteren Stadium der Gravidität waren höhere Estrin-Dosen erforderlich. SMITH fand am 2. Tag der Gravidität die größte

Empfindlichkeit gegenüber einer Estrin-Behandlung. D'AMOUR et al.(1933, 1934) versuchten,die Schwangerschaftsunterbrechung durch Estrin an Ratten weiter zu klären. Sie nahmen zwei mögliche Angriffspunkte an, und zwar

1. einen Antagonismus zwischen dem zugeführten Östrogen und irgendeinem anderen Hormon und

2. Veränderungen der Uterusmorphologie, die die Nidation bzw. die Entwicklung der Foeten verhindern.

Durch eine Behandlung mit nativen Hormon-Kombinationen, wie Estrin plus Corpus luteum-Hormon oder Estrin plus Luteinisierungsfaktor des HVL konnte in keinem Fall der Estrin-Effekt aufgehoben werden. Bei der histologischen Untersuchung nach Behandlung mit Estrin zeigten sich im Stadium vor der Implantation eine Fibrose und glanduläre Hyperplasie der Uterusmucosa, nach der Implantation fanden sich tote Foeten ohne erkennbare morpholo-

gische Schäden im Uterus.
BURDICK & WHITNEY (1937, 1938) berichten insbesondere über den Einfluß von Östrogene auf den Eitransport. Sie stellten fest, daß geringe Dosen zu einer Zurückhaltung der Blastocysten in der Tube führen, dagegen massive Dosen den Eitransport beschleunigen. 5oo IU Östron am 9. Tag der Gravidität verabfolgt,führten bis zum 12. Tag der Gravidität zum Tod aller Embryonen, am 14. Tag dagegen konnte selbst die zehnfache Dosis die Schwangerschaft nicht mehr beeinflussen. Als Ursache des Foetaltodes wurde eine Verschiebung des notwendigen Östrogen/Progesteron-Verhältnisses angesehen.
In vielen anderen Arbeiten über die Wirkung der Östrogene bei Gabe in der Schwangerschaft wurden die Ergebnisse und Vermutungen z.T. aufgehoben, bestätigt und ergänzt. Im folgenden soll ein kurzer Überblick über die große Anzahl der Untersuchungen und Ergebnisse gegeben werden.

Bei Ratte, Maus, Meerschweinchen und Kaninchen (SMITH 1926; PARKES & BELLERBY 1926; KELLY 1931; COURRIER & RAYNAUD 1934) konnte die Gravidität durch Östrogene beendet werden, beim Rhesus-Affen und Menschen (von WAGENEN 1944) ist dagegen keine Wirkung in diesem Sinne zu erzielen. Vielfach (PARKES & BELLERBY 1926; D'AMOUR et al. 1933; HUGGET & PRITCHARD 1945;PINCUS & KIRSCH 1936; DREISBACH 1959; SCHOFIELD 1962) wurde nachgewiesen, daß zur Schwangerschaftsunterbrechung umso höhere Östrogendosen erforderlich sind, je später der Beginn der Behandlung in der Schwangerschaft liegt.

Die größte Empfindlichkeit gegenüber Östrogenen wurde am 3. Tag der Gravidität gefunden (SMITH 1926; BURDICK & WHITNEY 1937,1938; DREISBACH 1959; GREENWALD 1957, 1959; EDGREN & SHIPLEY 1961; EDGREN et al. 1961) Zu diesem Zeitpunkt erfolgt der Eitransport durch die Tuben.

Die meisten Untersuchungen wurden zum Zeitpunkt des tubulären Transports durchgeführt (BURDICK & WHITNEY 1937, 1938; PINCUS & KIRSCH 1936; GREENWALD 1957, 1959,

1963;BANIK & PINCUS 1962, 1964; CHANG & YANAGIMACHI 1965; SAS et al. 1967). Grundlegend sind dabei die Arbeiten von GREENWALD (1957, 1959, 1963) am Kaninchen mit der Feststellung des Tubenverschlußes "tube locking" bei hohen Östrogendosen und beschleunigtem Eitransport bei niedrigen Östrogendosen, es liegt ein unterschiedlicher dosisabhängiger Angriffsmechanismus vor.

Zur Hemmung der Nidation durch Östrogene nach normal abgelaufenem Eitransport sind höhere Dosen erforderlich als in den ersten Tagen der Schwangerschaft (SMITH 1926; DREISBACH 1959). Ein direkter toxischer Effekt auf die Eizelle wurde nicht gefunden (PINCUS & KIRSCH 1936), es wurde vielmehr eine Störung der progestiven Wirkung auf das Endometrium bzw. eine verminderte deciduale Vorbereitung zur Implantation als Ursache der "foetotoxischen" Wirkung (HUGGET & PRITCHARD 1945; EDGREN & SHIPLEY 1961) angenommen. Östradiol scheint zur Zeit der Implantation von allen Östrogenen am stärksten wirksam zu sein (SAS et al. 1967).

Nach dem 1o. - 12. Tag der Gravidität ist mit Östrogenen kein Abort bzw. Resorption der Foeten mehr auslösbar (D'AMOUR et al. 1933; HUGGET & PRITCHARD 1945; DREISBACH 1959;EDGREN & SHIPLEY 1961; HECKEL & ALLEN 1939).

Als Ursache der "foetotoxischen" Wirkung der Östrogene wird von den meisten Untersuchern eine Verschiebung des Östrogen/Progesteron-Verhältnisses angesehen (D'AMOUR & GUSTAVSON 1934; BANIK & PINCUS 1962; CHANG 1965; ODENDAAL 1944; NEUMANN 1966).

Einige Untersucher sahen auch direkte Einwirkungen auf die Eizelle, Foet, Uterus und Placenta (HUGGET & PRITCHARD 1945; DREISBACH 1959; SCHOFIELD 1962; GREENWALD 1957; EDGREN & SHIPLEY 1961), wobei jedoch die Effekte stark abhängig waren von der Dosierung, vom Behandlungsbeginn in der Schwangerschaft sowie von der Spezies. Es konnte auch nicht geklärt werden, ob diese direkten Effekte primärer Natur sind oder nur sekundäre Erscheinungen aufgrund des gestörten Progesteron/Östrogen-Verhältnisses darstellen.

Es lag nun nahe zu vermuten, daß die "foetotoxische" Wirkung exogen zugeführter Östrogene durch Substitution mit Progesteron abgeschwächt oder aufgehoben wird. Dieser Nachweis wurde versucht und er

mißlang einigen Untersuchern (D'AMOUR & GUSTAVSON 1934; BANIK & PINCUS 1964), andere dagegen konnten diese Überlegung experimentell bestätigen (EDGREN et al. 1961; PARKES 1966).
In der Diskussion der eigenen Ergebnisse wird darauf näher eingegangen.

Androgene

Bereits 1937 zeigte SCIPIADES (1937), daß auch Androgene die Schwangerschaft unterbrechen können. Bei Ratten führt Testosteron in einer Dosis von 5 mg über die gesamte 2. Hälfte der Schwangerschaft gegeben, zur Resorption der Foeten oder zur Verlängerung der Schwangerschaft. Es wurde vermutet, daß Testosteron die Foeten durch Zerstörung des Endometriums schädigt. HAMILTON & WOLFE (1938) beschrieben ebenfalls bei Ratten den Effekt von täglichen Testosteronpropionatgaben zu verschiedenen Zeitpunkten der Gravidität. Sie diskutierten die Frage, ob Androgene direkt am Uterus oder indirekt auf das "endocrine System" wirken oder ob beide Angriffspunkte eine Rolle spielen. COURRIER & GROS (1938)

verhinderten 1938 die Implantation bei Kaninchen mit 1o mg/Tag Testosteronpropionat. Bei einer Untersuchung der Ovarien fanden sich nur kleine, blasse und fraglos funktionsgestörte Corpora lutea. Der eigentliche Wirkungsmechanismus wurde in einer Hypophysenhemmung gesehen, die zur Regression der Corpora lutea und damit zum Gestagenmangel führt, erkennbar an der Degeneration des Uterusepithels.
Im folgenden soll wiederum nur auf die wesentlichen Ergebnisse weiterer Untersuchungen hingewiesen werden.
Bei den Untersuchungen mit Androgenen wurde neben reinem Testosteron (DREISBACH 1959; SCIPIADES 1937; ABE & KANEKO 1961; DESAULLES & KRÄHENBÜHL 1964), meistens das etwas stärker androgen wirksame Testosteronpropionat (HAMILTON & WOLFE 1938; COURRIER & GROS 1938; BURDICK & EMERSON 1939; BURDICK et al. 194o; COURRIER & JOST 1944; JOST 1945) und nur selten wurden andere Androgenderivate (DREISBACH 1959; ABE & KANEKO 1961) benutzt.
Wie schon bei den Östrogenen können auch die Androgene die Schwangerschaft zu verschiedenen Zeitpunkten hemmen. BURDICK et al. beschrieben einen verlängerten Eitransport durch die Tuben nach Gabe

von Testosteronpropionat in den ersten Tagen der Gravidität. Mit 5 mg/Tag können die Eizellen vollständig in den Tuben zurückgehalten werden. Eine Beendigung der Gravidität durch Implantationshemmung kann ebenfalls erreicht werden (DREISBACH 1959; HAMILTON & WOLFE 1938; COURRIER & GROS 1938; DESAULLES & KRÄHENBÜHL 1964), wenn die Behandlung mit Androgenen nach Abschluß des Eitransportes beginnt. Im Postimplantationsstadium bewirken Androgene in ausreichender Dosierung Tod und Resorption der Foeten (DREISBACH 1959; SCIPIADES 1937; COURRIER & JOST 1944; JOST 1945). JOST (1945) weist dabei jedoch auf speziesabhängige Unterschiede hin. Das Kaninchen erweist sich als wesentlich länger empfindlich gegenüber Androgenen als die Ratte bzw. Maus. Bei der Ratte konnte anstelle des Abbruchs der Gravidität auch ein Aufschub der Geburt bzw. eine Verlängerung der Schwangerschaft durch Androgene erreicht werden (DREISBACH 1959; HAMILTON & WOLFE 1937). DREISBACH (1959) ermittelte durch einmalige Applikation gleich hoher Testosterondosen den Zeitpunkt der höchsten Empfindlichkeit bei Ratten. Er findet sich am 5. und 6. Tag der Gravidität, wenn die Eizelle frei im Uteruslumen liegt.

Die "foetotoxische" Wirkung der Androgene wird von den meisten Untersuchern wiederum auf eine Hemmung der Hypophysenfunktion und ein damit einhergehendes Defizit an Östrogenen und Progesteron zurückgeführt (COURRIER & GROS 1938; BURDICK & EMERSON 1939; JOST 1945; DESAULLES & KRÄHENBÜHL 1964). Die zu beobachtende Regression und Resorption bzw. Umwandlung der Corpora lutea in Corpora albicantes bei Ratten schien somit eine Folge der Hypophysenhemmung zu sein und meist die Ursache der foetotoxischen Effekte.
Andere Untersucher dagegen diskutierten einen direkten toxischen Effekt auf Foeten, Uterus oder Placenta (COURRIER & JOST 1944; JOST 1945), da sie bei Kaninchen und Mäusen bei "foetotoxischen" Dosen von Testosteronpropionat normal ausgebildete Corpora lutea fanden und da außerdem Progesteron die Wirkung von Testosteronpropionat im späteren Verlauf der Schwangerschaft nicht aufzuheben vermochte.

Gestagene

Wenige und zum Teil widersprüchliche Ergebnisse wurden über die schwangerschaftshemmende Wirkung

von Gestagenen berichtet. BURDICK (1942) verabfolgte Mäusen in den ersten Tagen der Gravidität Progesteron und beobachtete neben dem Abbruch der Schwangerschaft eine deutliche Involution der Corpora lutea. Er vermutete als Ursache eine Hemmung der Östrogen-Produktion, die notwendig ist zur Erhaltung der Corpora lutea. Eine vorübergehende Hemmung der Östrogen-Wirkung auf die Tube diskutierte CHANG (1966 a) als Erklärung der von ihm festgestellten Retention der Eier in der Tube nach Gestagenbehandlung. In weiteren Arbeiten berichtete CHANG (1964, 1966 b, 1968) über die Wirkung verschiedener Gestagene in den ersten Tagen der Gravidität, die zur vollständigen Degeneration der befruchteten Eier führten.

Nach ABE & KANEKO (1961) können Dosen von über 3,o mg/Tag Progesteron in verschiedenen Stadien der Schwangerschaft bei Ratten stets "abortiv" wirken, wobei aus dieser Untersuchung jedoch nicht hervorgeht, ob die Behandlung vor oder nach der Implantation stattfand.

Progesteron kann den Vorgang der Implantation

nicht verhindern (DESAULLES & KRÄHENBÜHL 1964; CHAMBON 1949), selbst excessive Dosen von 1oo,o mg/kg/Tag waren bei Ratten erfolglos. In den letzten drei Tagen der Schwangerschaft kann eine Behandlung mit Progesteron die Geburt bei Ratten verzögern (STUCKI & FORGES 196o), ein sogenannter "progesteron block" führt zur Hemmung der uterinen Motilität. Zusammenfassende Mitteilungen über Ergebnisse der antifertilen Wirkung von Gestagenen in der Schwangerschaft finden sich bei NEUMANN (1968).

Problemstellung

Wie in der Einleitung wiedergegeben, scheint der "foetotoxische" Effekt von Östrogenen, Androgenen und Gestagenen auf unterschiedlichen Angriffsmechanismen zu beruhen. Zumindest lassen sich zur Zeit unterschiedliche Ursachen nicht ausschließen. Ziel dieser Untersuchung sollte sein, den Wirkungsmechanismus foetotoxisch wirksamer Steroide speziell von Androgenen weiter zu klären. Insbesondere sollte untersucht werden, ob Androgene direkte

foetotoxische Effekte auf den Foet und/oder die Placenta ausüben oder ob Androgene über eine Störung des Östrogen-/Gestagengleichgewichtes foetotoxisch wirken. Zur Bearbeitung dieses Problems bot sich als Modell die Anwendung eines Antiandrogens, Cyproteron+ an. Cyproteron ist ein sogenanntes "reines" Antiandrogen ohne gestagene, antigonadotrope und andere Partialwirkungen NEUMANN et al. 1968, 197o; ELGER et al. 197o). Es konnte aufgrund zahlreicher anderer Untersuchungen mit diesem Antiandrogen von der Annahme ausgegangen werden, daß diese Verbindung in der Lage ist, direkte foetotoxische Effekte, die durch die Androgenität eines Steroids bedingt sind, aufzuheben. Aus den gleichen Überlegungen heraus, sollten auch noch einige synthetische Gestagene mit foetotoxischer Wirkung untersucht werden. Ausserdem sollten die histomorphologischen Veränderungen an Foeten, Uterus und Placenta nach Gaben foetotoxisch wirksamer Androgendosen (Testosteronpropionat) untersucht werden. Diese Untersuchungsergebnisse werden in einem für sich abgeschlossenen Teil wiedergegeben.

+ Diese Substanz wurde von Dr. R. Wiechert, Schering AG, Berlin, hergestellt.

II. MATERIAL und METHODE

Tiermaterial, Haltung, Ernährung

Es wurde mit geschlechtsreifen weiblichen Sprague-Dawley Ratten (Züchter Hoffmann) mit einem Körpergewicht von 17o - 2oo g gearbeitet. Die Tiere wurden gedeckt, der Schwangerschaftsbeginn wurde durch Spermiennachweis im Vaginalabstrich gesichert. Der Tag des Spermiennachweises in der Vagina gilt als Tag 1 der Gravidität. Die Tiere erhielten Altromin-Fertigfutter (Firma Altrogge) und Wasser ad libitum. Sie wurden in Makrolonkäfigen bei einer durchschnittlichen Raumtemperatur von 21°C gehalten. Die Besatzstärke pro Käfig betrug in der Regel 5 Tiere.

Verwandte Substanzen

Die für diese Untersuchung verwandten Substanzen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Testosteronpropionat, Norethisteronacetat und Methyltestosteron, Progesteron und Östradiol wurden in Sesamöl gelöst. Cyproteron und Medroxyprogesteronacetat wurden in einem Benzylbenzoat-Rizinus-Gemisch im Verhältnis 1 : 2o gelöst. Für die orale Applikation wurden

Tabelle 1

Verwandte Substanzen

Stoffklasse	Chem. Bezeichnung	Kurzbezeichnung bzw. Generic Name	benutzte Abkürzung
Androgene	17,3-Propionyloxy-4-androsten-3-on	Testosteron-propionat	TP
	17,3-Hydroxy-17α-methyl-4-androsten-3-on	Methyltesto-steron	MT
Oestrogene	3,17,3,-Dihydroxy-1,3,5 (1o)-oestratrien	Östradiol	-
Gestagene	17,3-Acetoxy-17α-aethinyl-4-oestren-3-on	Norethisteronacetat	ANTA
	17 α Acetoxy-6α-methyl-4-pregnen-3,2o-dion	Medroxyprogeste-ronacetat	MAP
	4-Pregnen-3,2o-dion	Progesteron	-
Antiandrogen	6-Chlor-17α-hydroxy-1α,2α-methylen-4,6-pregnadien-3,2o-dion	Cyproteron	-

Norethisteronacetat und Methyltestosteron in einem Carboxy-Methyl-Cellulose und Collidon-Gemisch suspendiert. Die Tagesdosen waren immer in o.2 ml Vehikel enthalten.

Versuchsansatz

1. Untersuchungen zur "foetotoxischen Wirkung" von Sexualhormonen

1.1. Behandlung in der ersten Hälfte der Schwangerschaft:

Die Behandlung erstreckte sich vom 3. - 9. Tag der Gravidität. In Tabelle 2 sind die einzelnen Versuchstiergruppen und die Art der Behandlung angegeben. Einen Tag vor der zu erwartenden Geburt (am 21. Tag der Gravidität) erfolgte die Tötung der Tiere durch Chloroform. Durch Sektion wurden Uterus und Ovarien entnommen und deren Gewicht ermittelt. Außerdem wurde die Zahl der lebenden Foeten und die Anzahl der Foeten pro Muttertier registriert sowie das Einzelgewicht der Foeten festgehalten. Notiert wurden auch Anzahl und Größe, eventuell vorhandener Implantationsstellen.

Tabelle 2 Untersuchungen zur "foetotoxischen Wirkung" von Sexualhormonen

1.1. Behandlung in der ersten Hälfte (3.-9.Tag) der Gravidität

Testsubstanz	Dosis (mg/Tier/Tag)			Antiandrogen	Gestagen	Dosis (mg/Tier/Tag)	Applikation
	Anzahl	Bereich	Applikation				
Testosteron propionat	8	0,05-0,6	s.c.	-	-	-	-
	8	0,05-0,6	s.c.	Cyproteron	-	10	s.c.
	5	0,05-0,4	s.c.	-	Progesteron	10	s.c.
Methyl-testosteron	3	0,5-2,0	s.c.	-	-	-	-
	3	0,5-2,0	s.c.	Cyproteron	-	10	s.c.
	4	2,0-16,0	p.o.	-	-	-	-
	4	2,0-16,0	p.o.	Cyproteron	-	10	s.c.
Oestradiol	4	0,19-1,56*	s.c.	-	-	-	-
	3	0,19-0,78	s.c.	Cyproteron	-	10	-
	3	0,39-1,56	s.c.	-	Progesteron	10	-

Tabelle 2 Untersuchungen zur "foetotoxischen Wirkung" von Sexualhormonen

1.1. Behandlung in der ersten Hälfte (3.-9.Tag) der Gravidität

Testsubstanz	Dosis (mg/Tier/Tag)			Antiandrogen	Gestagen	Dosis (mg/Tier/Tag	Applikation
	Anzahl	Bereich	Applikation				
Norethisto-steronacetat	4	o,5-4,o	s.c	-	-	-	-
	4	o,5-4,o	s.c.	Cyproteron	-	1o	s.c.
	4	o,5-4,o	p.o.	-	-	-	-
	4	o,5-4,o	p.o.	Cyproteron	-	1o	s.c.
Medroxy-progesteron	4	2,o-16,o	s.c.	-	-	-	-
	4	2,o-16,o	s.c.	Cyproteron	-	1o	s.c

* statt mg/Tier/Tag hier γ/Tier/Tag

1.2. Behandlung in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft:

Die Behandlung erstreckte sich vom 11. - 16. Tag der Gravidität. In Tabelle 3 sind die einzelnen Versuchstiergruppen und die Art der Behandlung angegeben. Die Auswertung erfolgte in der gleichen Art wie oben angegeben.

2. Untersuchungen zur Aufklärung des " foetotoxischen" Wirkungsmechanismus von Testosteronpropionat

Versuchsgruppen und Art der Behandlung können der Tabelle 4 entnommen werden. Die Auswertung erfolgte wie unter 1.1. angegeben.

3. Untersuchungen der histomorphologischen Veränderungen an Foeten, Placenta und Uterus

3.1. Behandlung in der ersten Hälfte der Gravidität:

Versuchsgruppen, Art der Behandlung und Tötungstermine sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Tabelle 3 1.2. Behandlung in der zweiten Hälfte (11.-16.Tag) der Gravidität

Testsubstanz		Dosis (mg/Tier/Tag) Anzahl	Bereich	Applikation	Antiandrogen	Gestagen	Dosis (mg/Tier/Tag)	Applikation
Testosteron-propionat	a)	5	o,3-1,2	s.c.	-	-	-	-
		5	o,3-1,2	s.c.	Cyproteron	-	1o	s.c.
		3	o,6-1,2	s.c.	-	Progesteron	1o	s.c.
	b)	3	o,3-o,6	s.c.	-	-	-	-
		3	o,3-o,6	s.c.	Cyproteron	-	3o	s.c.

Tabelle 4 2. Untersuchungen zur Aufklärung des "foetotoxischen" Wirkungsmechanismus von Testosteronpropionat

Operation 8. Tag der Gravidität	Substitution 7.-2o. Tag der Gravidität (mg/Tier/Tag)	Testsubstanz 11.-16. Tag der Gravidität	Dosis (subcutan) (mg/Tier/Tag)
Kastration	-	-	-
	Progesteron (1o,o) Östron (o,oo1)	-	-
	Progesteron (1o,o) Östron (o,oo1)	Testosteron-propionat	o,45
	Progesteron (1o,o) Östron (o,oo1)	Testosteron-propionat	o,6
	Progesteron (1o,o) Östron (o,oo1)	Testosteron-propionat	o,9

Tabelle 4

Operation 8. Tag der Gravidität	Substitution 7.-2o. Tag der Gravidität (mg/Tier/Tag)	Testsubstanz 11.-16. Tag der Gravidität	Dosis (subcutan) (mg/Tier/Tag)
Hypophysek-tomie	-	-	-
	Progesteron (1o,o) + Östron (o,oo1)	-	-
	Progesteron (1o,o) + Östron (o,oo1)	Testosteron-propionat	o,6

Tabelle 5

3. Untersuchungen der histomorphologischen Veränderungen an Foeten, Placenta und Uterus

3.1. Behandlung in der ersten Hälfte (3.-9.Tag) der Gravidität

Testsubstanz	Dosis (mg/Tier/Tag/s.c.)	behandelt von-bis Tag	Autopsie x. Tag
Testosteron-propionat	unbehandelte Kontrolle		6.
	0,15	3.-5.	6.
	0,3	3.-5.	6.
	unbehandelte Kontrolle		8.
	0,15	3.-7.	8.
	0,3	3.-7.	8.
	unbehandelte Kontrolle		1o
	0,15	3.-9.	1o
	0,3	3.-9.	1o

Nach der Autopsie wurden Uterus und Ovarien der Versuchstiere entnommen, im Bouinschen Gemisch fixiert, in Paraffin eingebettet,geschnitten und mit Hämatoxilin-Eosin gefärbt. Alle histologischen Präparate wurden mit entsprechenden Präparaten unbehandelter Kontrollen verglichen.

3.2. Behandlung in der zweiten Hälfte der Gravidität:

Die Versuchstiergruppen, Art der Behandlung und Tötungstermine sind der Tabelle 6 zu entnehmen. Die Auswertung geschah wie unter 3.1. angegeben.

Tabelle 6 3.2. Behandlung in der zweiten Hälfte (11.-16.Tag) der Gravidität

Testsubstanz	Dosis (mg/Tier/Tag/s.c.)	behandelt von-bis Tag	Autopsie x.Tag
Testosteron-propionat	unbehandelte Kontrolle		13.
	0,45	11.-12.	13.
	0,6	11.-12.	13.
	0,9	11.-12.	13.
	unbehandelte Kontrolle		15.
	0,45	11.-14.	15.
	0,6	11.-14.	15.
	0,9	11.-14.	15.
	unbehandelte Kontrolle		17.
	0,45	11.-16.	17.
	0,6	11.-16.	17.
	0,9	11.-16.	17.

III. ERGEBNISSE

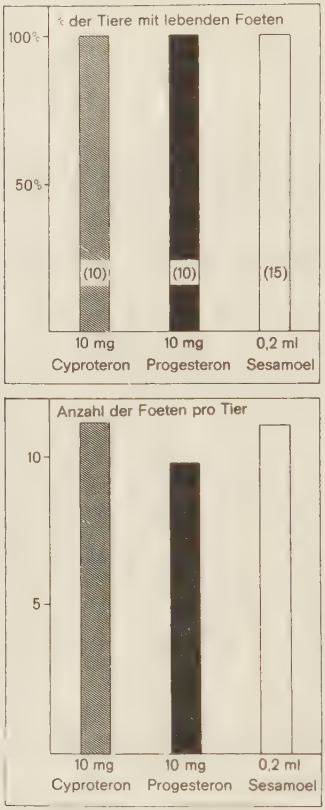
Bei der Dokumentation der Ergebnisse wird in den einzelnen Versuchstiergruppen nur angegeben, wieviel % der Tiere in den einzelnen Gruppen lebende Foeten hatten und wie hoch die Anzahl der Foeten pro Tier war. Auf die Wiedergabe der Ovargewichte wird verzichtet, weil sich keine Abhängigkeit von der Art der Behandlung zeigte. Das gleiche gilt für die Körpergewichte der lebenden Foeten. Unberücksichtigt bei der Dokumentation der Ergebnisse bleiben auch die Implantationsstellen, die häufig in verschiedener Zahl und Größe bei der Sektion gefunden wurden.

1. Untersuchungen zur "foetotoxischen" Wirkung von Sexualhormonen

1.1. Behandlung in der ersten Hälfte der Gravidität:

Kontrollen

Cyproteron, Progesteron und das meist verwandte Lösungsmittel Sesamöl wurde den Versuchstieren neben den Testsubstanzen bei dieser Untersuchung verabfolgt, daher wurden zur Kontrolle je eine Versuchs-



(x) Anzahl der Versuchstiere

Abb. 1: Kontrollen: Wirkung von Cyproteron, Progesteron und Sesamöl (Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität)

tiergruppe nur mit 1o mg Cyproteron, 1o mg Progesteron oder o,2 ml Sesamöl behandelt. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 1 wiedergegeben. Im oberen Teil der Abbildung ist die Zahl der Muttertiere mit lebenden Foeten, im unteren Teil die Anzahl der Foeten pro Tier angegeben. Wie die Abbildung 1 zeigt, haben bei einer Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität weder Cyproteron, Progesteron noch Sesamöl eine eigene "foetotoxische" Wirkung.

Testosteronpropionat

Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 wiedergegeben. Wie Abbildung 2 zeigt, genügt eine Tagesdosis von etwa o,2 mg Testosteronpropionat, um bei etwa 5o % der Versuchstiere die Schwangerschaft zu unterbrechen bzw. die Implantation zu hemmen. Nach Gabe von täglich o,6 mg hatte kein Versuchstier lebende Foeten. Gleichzeitige Gabe von Cyproteron verhindert den "foetotoxischen" Effekt von Testosteronpropionat nur bei den sehr hohen Testosteronpropionat-Dosen von o,3 mg an aufwärts. Die foetotoxische Wirkung wird überraschenderweise durch das Antiandrogen nicht deutlich beeinflußt. Dem gegenüber gelingt es mit

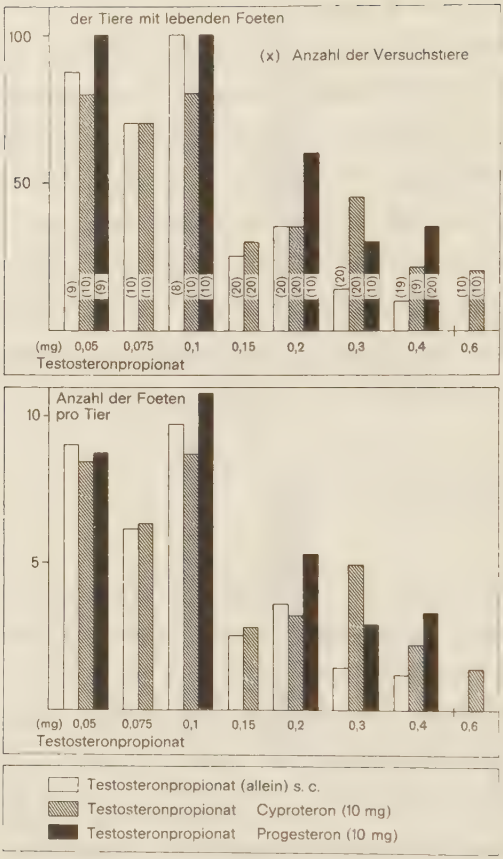


Abb. 2: "Foetotoxische" Wirkung von Testosteron-propionat (TP) und Aufhebbarkeit des TP-Effektes durch Cyproteron bzw. Progesteron (Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität)

Progesteron in nahezu allen Dosierungen von Testosteronpropionat die foetotoxische Wirkung abzuschwächen.

Methyltestosteron

Die Ergebnisse werden in Abbildung 3 a und b veranschaulicht. Der foetotoxische Effekt von Methyltestosteron wird durch gleichzeitige Gabe von Cyproteron - unabhängig von der Applikationsart des Androgens - abgeschwächt oder auch völlig aufgehoben. Der "Schutzeffekt" von Cyproteron nach oraler Gabe von Methyltestosteron ist etwas deutlicher ausgeprägt als bei subkutaner Applikation des Androgens.

Östradiol

Die Ergebnisse sind in Abbildung 4 dargestellt. Eine Tagesdosis von 1.5 γ Östradiol war ausreichend, um bei allen Versuchstieren die Schwangerschaft vollständig zu unterbrechen bzw. die Implantation zu hemmen. Die gleichzeitige Gabe von Cyproteron hatte keinen Einfluß auf die foetotoxische Wirkung des Östradiols, wohl dagegen die gleichzeitige Substitution mit Progesteron. Zum Beispiel weist bei

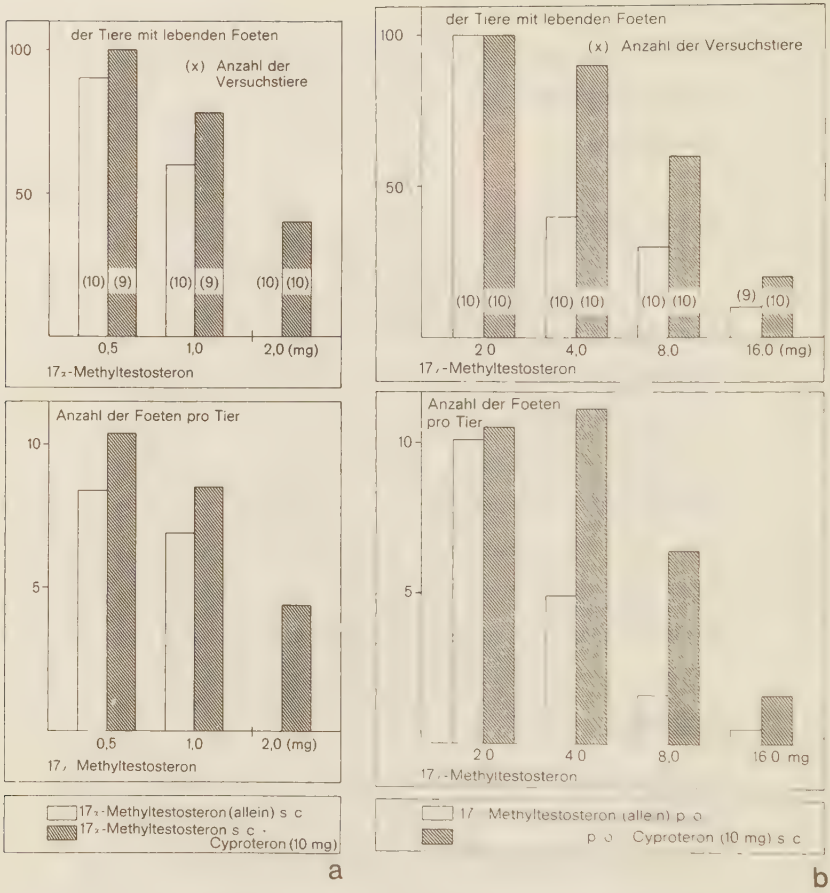


Abb. 3: "Foetotoxische" Wirkung von Methyltestosteron (MT) und Aufhebbarkeit des MT-Effektes durch Cyproteron (Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität)
a) subkutan
b) per os

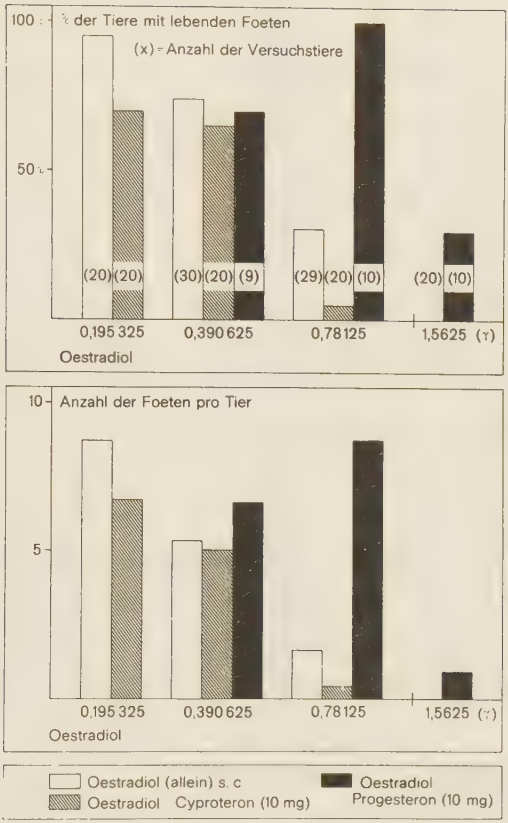


Abb. 4: "Foetotoxische" Wirkung von Östradiol und Aufhebbarkeit des Östradiol-Effektes durch Cyproteron bzw. Progesteron (Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität)

einer Östradioldosis o.78 µg praktisch keines der Tiere lebende Foeten auf, dagegen hatten nach gleichzeitiger Gabe von täglich 1o mg Progesteron alle Tiere lebende Foeten.

Norethisteronacetat

Wie Abbildung 5 a und b zeigen, gelingt es, sowohl bei subkutaner als auch oraler Gabe von Norethisteronacetat die Schwangerschaft zu unterbinden. Bei beiden Applikationsarten ist dieses Gestagen im Vergleich stark wirksam. 1 - 2 mg reichen jeweils aus, um bei 5o % der Muttertiere die Schwangerschaft zu unterbrechen. Die gleichzeitige Gabe von Cyproteron hat keinen signifikanten Einfluß auf die foetotoxische Wirkung des Gestagens.

Medroxyprogesteronacetat

Die Ergebnisse sind in Abbildung 6 dargestellt. Bereits bei einer Tagesdosis von 2 mg/Tier Medroxyprogesteronacetat ist die Zahl der Tiere mit lebenden Foeten gegenüber unbehandelten Kontrollen reduziert. Eine Dosis von 4 mg wirkt bereits stark foetotoxisch, etwa 8o % der Versuchstiere haben keine lebenden Foeten mehr. Durch gleichzeitige Gabe von Cyproteron konnte der foetotoxische Effekt dieses Gestagens weitgehend aufgehoben werden. Implantationsstellen waren bei den

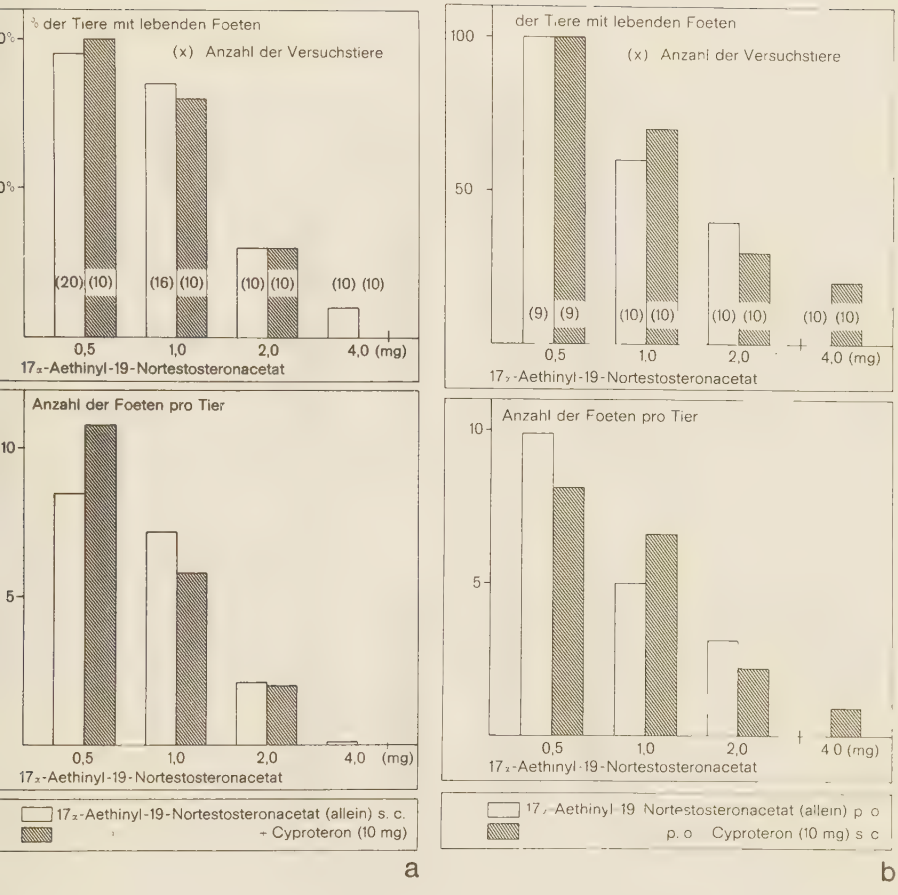


Abb. 5: "Foetotoxische" Wirkung von Norethisteronacetat (ÄNTA) und Aufhebbarkeit des ÄNTA-Effektes durch Cyproteron (Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität)
a) subkutan
b) per os

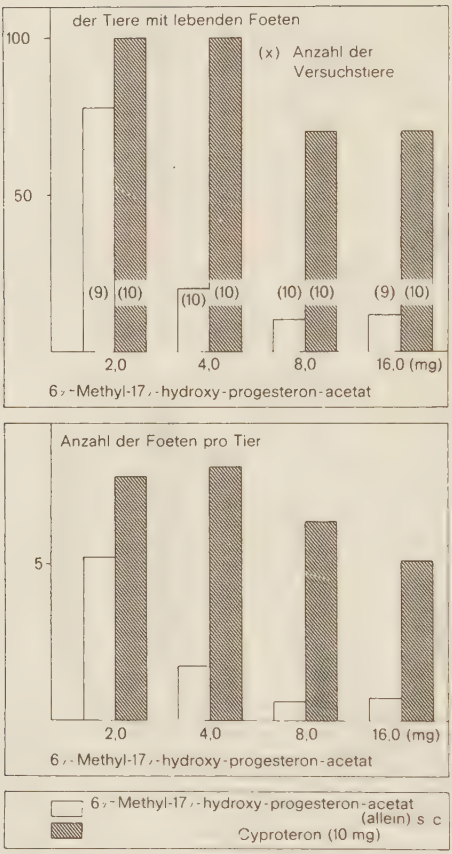


Abb. 6: "Foetotoxische" Wirkung von Medroxyprogesteron-acetat (MAP) und Aufhebbarkeit des MAP-Effektes durch Cyproteron (Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität)

mit Medroxyprogesteronacetat behandelten Tieren in der Regel noch deutlich erkennbar, wie Abbildung 7 a zeigt. Abbildung 7 b zeigt zum Vergleich daneben den präparierten Uterus eines Tieres, das mit 4 mg Medroxyprogesteronacetat und gleichzeitig mit 1o mg Cyproteron behandelt wurde. Neben einer Resorptionsstelle sind deutlich 8 lebende Foeten erkennbar.

1.2. Behandlung in der zweiten Hälfte der Gravidität:

Testosteronpropionat

Auch in der bereits fortgeschrittenen Schwangerschaft gelingt mit Testosteronpropionat eine Schwangerschaftsunterbrechung, wie Abbildung 8 a und b zeigen. Allerdings liegen die dazu erforderlichen Dosen erheblich über den Dosen, die die Implantation hemmen (vergleiche mit Abbildung 2). Bei den in Abbildung 8 a und b dargestellten Versuchsergebnissen handelt es sich um zwei getrennte Versuchsreihen, die zeitlich auseinanderlagen und die auch mit Tieren verschiedener Progenienz (unterschiedliche Lieferanden) durchgeführt wurden. Nur so sind die Differenzen zu erklären. Es zeigt sich auch hier wieder, daß Cyproteron nur den foetotoxischen

Abb. 7: "Foetotoxische" Wirkung von Medroxyprogesteronacetat (MAP) und Aufhebbarkeit des MAP-Effektes durch Cyproteron (Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität)

Uterussektionspräparate
a) Medroxyprogesteronacetat allein (4,o mg)
b) Medroxyprogesteronacetat (4,o mg) + Cyproteron (1o mg)

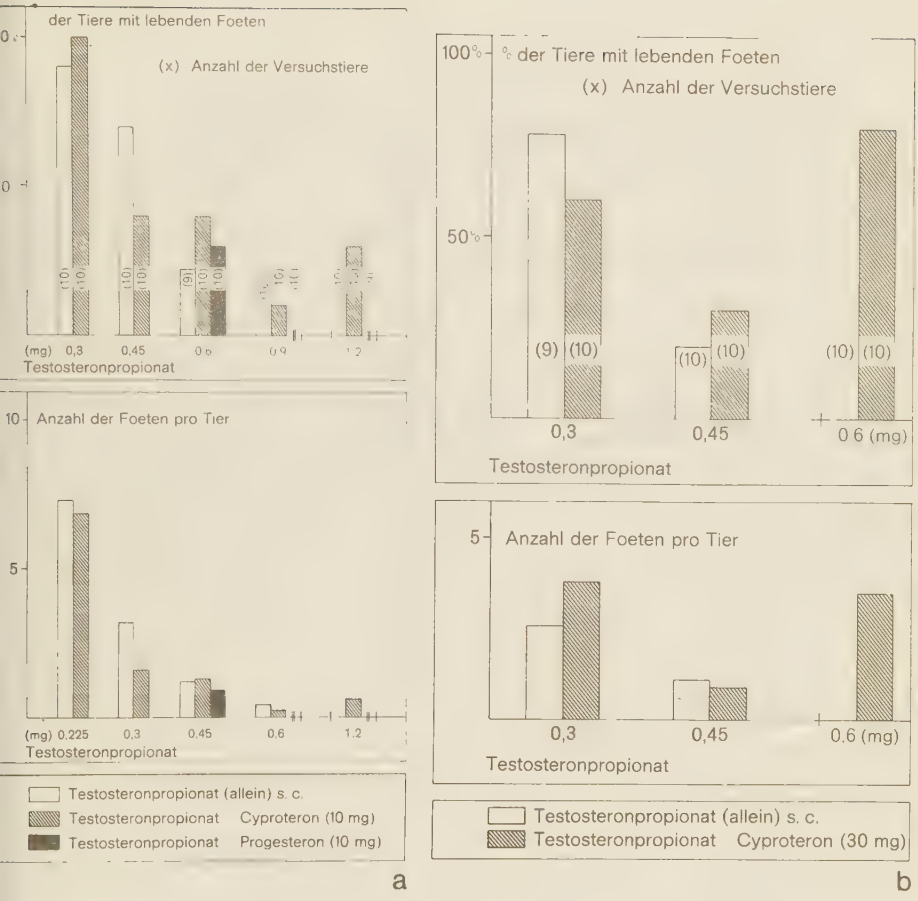


Abb. 8: "Foetotoxische" Wirkung von Testosteron-propionat (TP) und Aufhebbarkeit des TP-Effektes durch Cyproteron bzw. Progesteron (Behandlung vom 11. - 16. Tag der Gravidität)
a) 10.0 mg
b) 30.0 mg Cyproteron

Effekt von hohen Testosteronpropionatdosen zu beeinflussen vermag. Immerhin sind die Ergebnisse insofern eindeutig, daß zumindest bei einer Dosis von 3o mg Cyproteron und o,6 mg Testosteronpropionat etwa 7o % der Muttertiere lebende Foeten hatten. In der Gruppe, die nur Testosteronpropionat erhielt, waren keine lebenden Foeten vorhanden. Progesteron hat im Gegensatz zur Behandlung vom 3. - 9. Tag keinen Einfluß auf den foetotoxischen Effekt des Testosteronpropionats in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft.

2. Untersuchungen zur Aufklärung des foetotoxischen Wirkungsmechanismus von Testosteronpropionat

Diese Untersuchungen sind in Tabelle 7 zusammengefaßt.

Tabelle 7

Ergebnisse der an kastrierten und hypophysektomierten Tieren durchgeführten Untersuchung (siehe dazu Tabelle 4)

Behandlung	Anzahl d.Versuchstiere	Tiere mit lebenden Foeten	Anzahl Foeten pro Tier
Kastration	5	-	-
+ Substitution	5	5	1o.8
+ Testosteronpropionat			
o,45 mg	5	5	7.4
o,6 mg	5	5	8.o
o,9 mg	5	5	7.6
Hypophysektomie	1o	-	-
+ Substitution	1o	1o	9.8
+ Testosteronpropionat			
o,6 mg	9	-	-

Es zeigt sich, daß sowohl nach Kastration als auch Hypophysektomie bei adäquater Substitution mit Progesteron und Östron die Schwangerschaft erhalten werden kann. Wurden kastrierte und mit Progesteron, Östron substitutierte Tiere mit Testosteronpropionat behandelt (o,45, o,6 und o,9 mg/Tier/Tag), so war der Prozentsatz der Tiere mit lebenden Foeten ebenso hoch wie in der entsprechenden Kontrollgruppe, wenn auch die mittlere Foetenzahl pro Tier etwas niedriger erscheint, so dürfte dies allerdings im normalen Streuungsbereich liegen und ein Zufallsbefund sein. Bei hypophysektomierten und Progesteron/Östron-substituierten Tieren ließ sich jedoch die Schwangerschaft durch zusätzliche Gabe von Testosteronpropionat vollständig unterbrechen.

3. Untersuchungen der histomorphologischen Veränderungen an Foeten, Placenta und Uterus

Wie in Abschnitt Material und Methode beschrieben, wurden für die histomorphologischen Untersuchungen die Versuchstiere nach einem bestimmten Schema behandelt (siehe Tabelle 5 und 6), so daß der zeitliche Ablauf der pathologischen Veränderungen an Frucht, Placenta oder Uterus unter Testosteronpropionat verfolgt werden konnte.

Die normale Implantation und Placentation der Ratte:

Die normale Implantation und Placentation bei der Ratte soll anhand einiger Abbildungen nur soweit dargestellt werden, als es zum Verständnis der darauffolgenden Ergebnisse notwendig erscheint.

Die Schwangerschaftsdauer bei der Ratte beträgt 21 Tage mit einer durchschnittlichen Foetenzahl von 8 pro Wurf. Nach ihrem Weg durch die Tube erreicht die Blastocyste am 3. Tag p.c. das Uteruslumen. Vor der eigentlichen Implantation am 7. Tag p.c. erfolgt bereits am 4. Tag die erste deciduale Reaktion des Endometriums (Abbildung 9). Die Implantation der Blastocyste erfolgt exzentrisch in einer dem Mesometrium gegenüberliegenden Falte oder Krypte des Uterusepithels. An der Stelle der Nidation verdickt sich die Mucosa, das angrenzende Epithel degeneriert, bedingt durch den Berührungsreiz des foetalen Ektoderms oder durch den Druck des subepithelialen, ödematös gequollenen Gewebes. In dem Mesometrium anliegenden Bereich des Endometriums dilatieren die Kapillaren und formen sich zu Sinussoiden um (Abbildung 1o). An einem Pol der Blastocyste proliferieren Trophoblastenzellen zum "Ektoplazentalen Konus", als der foetale Anteil der zu bildenden Placenta. Der "Ektoplazentale Konus" schließt nach der Implantation die Krypte vom Restlumen des Uterus ab und bildet so die Eikammer, während das Restlumen durch weitere deciduale Proliferation obliteriert (Abbildung 11). Die Blasto-

Abb. 9

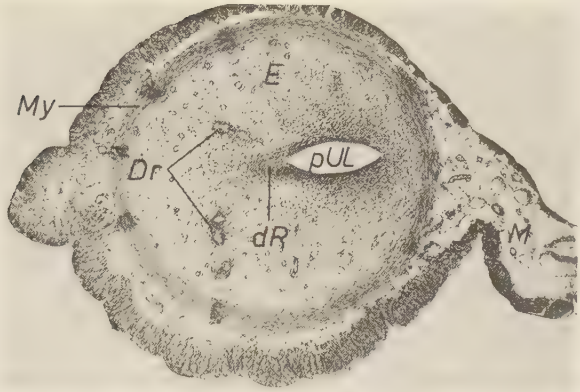
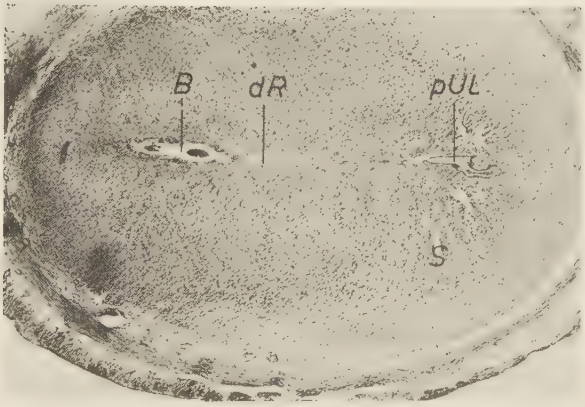


Abb. 10



Die normale Implantation und Placentation der Ratte

Abb. 9: Uterusquerschnitt, Autopsie am 6. Tag der Gravidität.
Kegelförmige deciduale Reaktion am antimesometrialen Teil des primären Uteruslumens.
Vergr.: ca. 35 x

Abb. 1o: Uterusquerschnitt, Autopsie am 8. Tag der Gravidität.
Die Implantation der Blastocyste ist erfolgt, die Eikammer ist vom Uteruslumen vollständig abgetrennt.
Vergr.: ca. 35 x

My = Myometrium, M = Mesometrium, E = Endometrium, Dr = Drüsen, dR = deciduale Reaktion, pUL = primäres Uteruslumen, B = implantierte Blastocyste, S = Sinussoide

cyste besteht am 7. Tag p.c. aus Ekto- und Entoderm. Aus dieser primär einkammerigen sog. "Präamniotischen Höhle" teilen sich durch Invagination des Ektoderms drei Höhlen ab. Im antimesometrialen Teil der Blastocyste findet sich der "ektoplazentale Raum". Der Boden dieses Raumes ist das Chorion als Grenze zum "extraembryonalen Coelom". Als letztes schließt sich der "amniotische Raum" an diesen an. Die Wand der "Eikammer" ist die Decidua capsularis, die am 7. Tag p.c. gebildet,den Beginn der Plazentation bei der Ratte darstellt. Zwischen dem 7.-11. Tag bildet sich eine Dottersackplazenta mit einer zirkulären Blutversorgung über die Decidua capsularis.(Abbildung 11). Am 11. Tag verbindet sich das Mesoderm der Allantois mit dem "Ektoplazentalen Konus" über foetale Blutgefäße, damit ist eine funktionsfähige Plazenta gebildet. Die Riesenzellen ("Giant cells") (Abbildung 12) sind eine charakteristische Zellart der Plazenta der Nagetiere und in allen Entwicklungsstadien zu sehen. Es handelt sich dabei um große lange mononucleäre Zellen mit phagocytierenden Eigenschaften. Sie erscheinen zuerst am antimesometrialen Pol der Blastocyste und stammen entweder von Trophoblasten oder der Decidua ab. Die Zellen, die verbunden sind über cytoplas-

Abb. 11

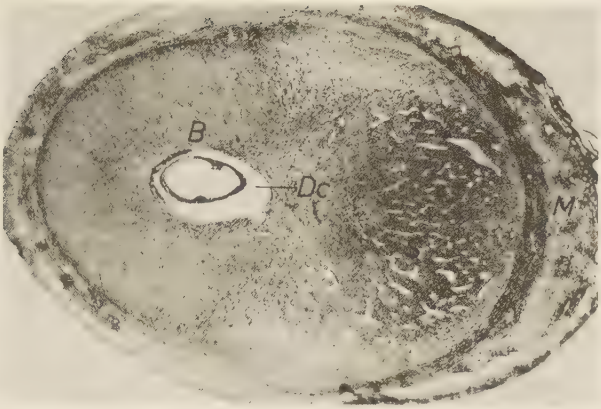
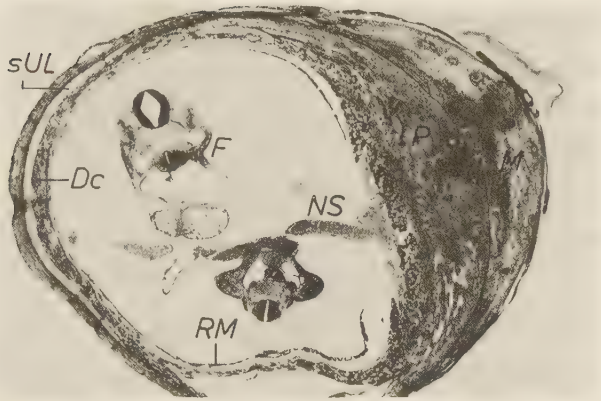


Abb. 12



Normale Implantation und Placentation der Ratte

Abb. 11: Uterusquerschnitt, Autopsie am 1o. Tag der Gravidität.
Eikammer mit unterteilter Blastocyste und Decidua capsularis, primäres Uteruslumen verschlossen.
Vergr.: ca. 22 x

Abb. 12: Uterusquerschnitt, Autopsie am 13. Tag der Gravidität.
Weit fortgeschrittene foetale und placentale Entwicklung.
Vergr.: ca. 14 x

B = Blastocyste, S = Sinussoide, M = Mesometrium, F = Foet, Dc = Decidua capsularis, P = Placenta, sUL = sekundäres Uteruslumen, NS = Nabelschnur, RM = Reichert'sche Membran

matische Fortsätze bilden schließlich ein loses Maschenwerk zwischen der"Reichert'schen Membran" und der Decidua, ein Raum in dem mütterliches Blut zirkuliert. An der funktionellen Plazenta sind die Riesenzellen neben der Decidua basalis sichtbar.
Zur Zeit der endgültigen Plazentation hat die Decidua capsularis ihre höchste Entwicklungsstufe erreicht und nimmt bis zum 15. Tag schnell ab. Durch die Degeneration der Decidua, die schließlich nur in einem schmalen Steg zwischen Uteruswand und Plazenta übrigbleibt, entsteht um die Eikammer ein sekundäres Uteruscavum, begrenzt durch die Wand des Dottersackes und normales Uterusepithel. Die Weiterentwicklung der Eikammer ist begleitet von einer Verdünnung der Wände, die zur "Reichert'schen Membran" werden, bestehend aus degenerierten Riesenzellen und einer dünnen Muskelschicht.
Die Plazentation bei Ratte, Maus und verschiedenen Nagern ist eine deciduale, discoide und labyrinthische Plazenta vom hämochorialen Typ, die gegen Ende der Schwangerschaft zum hämoendothelialen Typ umgebildet wird (Abbildung 13 und 14).
Das Labyrinth ist der Teil der Plazenta, der von

Abb. 13

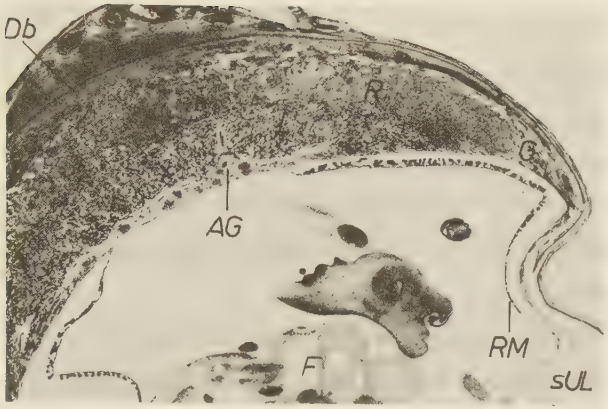


Abb. 14

Normale Implantation und Placentation der Ratte

Abb. 13: Uterusquerschnitt, Autopsie am 15. Tag der Gravidität.
Vergr.: ca. 14 x

Abb. 14: Uterusquerschnitt, Autopsie am 17. Tag der Gravidität.
Vergr.: ca. 14 x

In allen Schichten vollständig entwickelte Placentastruktur.

F = Foet, RM = Reichert'sche Membran, sUL = sekundäres Uteruslumen, AG = Allantoisgefäße, L = Labyrinth, R = Reticularis, G = Riesenzellen, Db = Decidua basalis, M = Mesometrium

foetalen Gefäßen durchdrungen ist. Alle cellulären Umbauvorgänge in diesem Bereich dienen nur dem Zweck, durch Verdünnung der Trennmembran die Austauschfläche zwischen foetalen und mütterlichen Gefäßen zu vergrößern, wodurch schließlich das hämoendotheliale Austauschverhältnis geschaffen wird.
An der vollständig ausgebildeten Placenta unterscheidet man verschiedene Abschnitte von außen nach innen (Abbildung 13 und 14).

1. Die Decidua basalis. Sie liegt nächst dem Mesometrium und besteht aus den typischen Decidualzellen. Sie wird von mütterlichen Sinussoiden durchdrungen.

2. Die Riesenzellschicht. Es ist eine schmale Durchdringungszone, die gegen Ende der Schwangerschaft degeneriert und somit die Ablösung der Placenta vorbereitet.

3. Die Reticularis. Es ist eine schwammige Zone, die von Trophoblasten gebildet wird und keine foetalen Blutgefäße enthält.

4. Das Labyrinth. Es ist eine syncitiale Trophoblastenschicht mit mütterlichen Lacunen, die von den Allantoiszotten mit den foetalen Gefäßen umgeben sind.

Literatur: HUGGETT & PRITCHARD 1945; NICHOLAS 1942; COHRS et al. 1958; PARKES 1966.

3. Untersuchungen der histomorphologischen Veränderungen an Foeten, Placenta und Uterus

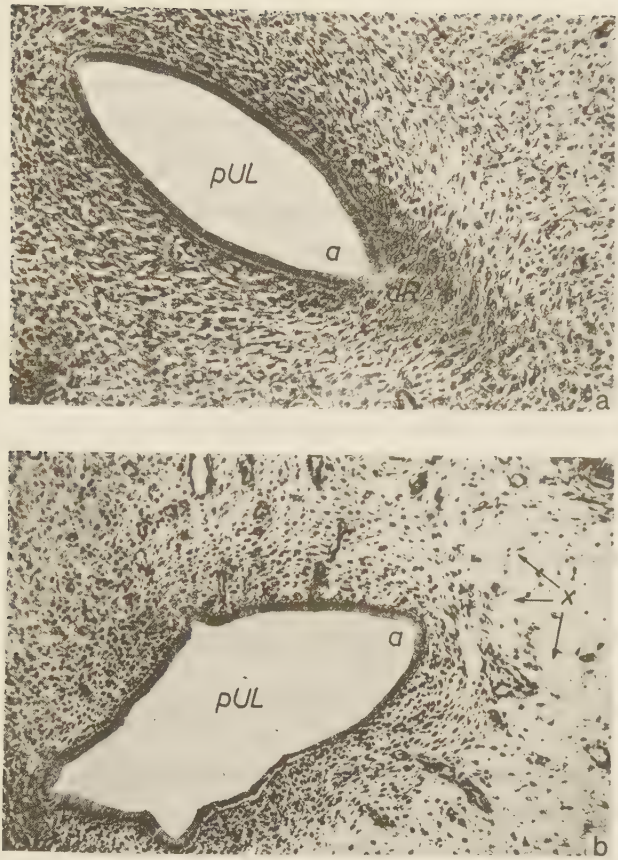
3.1. Behandlung in der ersten Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Um einen zeitlichen Ablauf der pathologisch-anatomischen Veränderungen der Frucht durch die TP-Behandlung vom 3.-9. Tag p.c. zu erhalten, wurden behandelte Tiere an bestimmten Tagen getötet, Uterusserienschnitte angefertigt und diese mit Kontrollschnitten unbehandelter Tiere vom gleichen Schwangerschaftstag verglichen. Da für die Behandlung dieser Tiere nicht die voll wirksame Hemmdosis von TP verwendet wurde, mußten bei der histologischen Begutachtung die behandelten Tiere mit normalem Schwangerschaftsverlauf verworfen werden. Dokumentiert durch nur einige ausgewählte Bilder soll im folgenden das Ergebnis dieser Untersuchung dargestellt werden.

Autopsie am 6. Tag der Gravidität

Unbehandelte Kontrolle (Abbildung 9 und 15 a):

Einen Tag vor der zu erwartenden Implantation der



ad 3.1. Behandlung in der 1. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 15: Uterusquerschnitte, Autopsie am 6. Tag der Gravidität.
a) unbehandelt
b) mit 0.3 mg/die behandelt vom 3. - 5. Tag der Gravidität
Vergr.: ca. 140 x

Bei Vergleich deutliches Fehlen der decidualen Reaktion im antimesometrialen Bereich des primären Uteruslumens nach der Behandlung, deutliche Auflockerung des Endometrium.

a = antimesometrial, pUL = primäres Uteruslumen, dR = deciduale Reaktion, x = Auflösungszeichen

Blastocyste findet sich nur noch ein kleines Uteruslumen, das scharf begrenzt ist durch ein einschichtiges hochprismatisches Zylinderepithel. Im antimesometrialen Kryptenbereich sind die Kerne des Epithels größer und weniger dicht gelagert, der Cytoplasmasaum erscheint hoch. Im subepithelialen Bereich der Krypte kommt es zur großzelligen Umwandlung von Stromazellen als Zeichen der decidualen Reaktion. Das dem Mesometrium naheliegende Endometrium zeichnet sich durch vermehrten Zellgehalt aus, wobei die eosinophilen Plasmaleiber netzartig verbunden sind und die Uterindrüsen weitgehend verdrängt werden.

o.15 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 3. - 5. Tag der Gravidität:

Im Bereich einer nur flachen Kryptenbildung erscheint der Cytoplasmasaum der Epithelzellen infolge verminderter Kerngröße erhöht. Die deciduale Stromareaktion am antimesometrialen Uteruspol ist deutlich gehemmt. Auffallend ist eine deutliche Vermehrung der uterinen Drüsen im Endometrium.

o,3 mg TP, behandelt vom 3.-5. Tag der Gravidität (Abbildung 15 b):

Die Auflockerung des Endometriums und die retikuläre Anordnung der Stromazellen weist auf erhebliche Umbauvorgänge hin. Eine deciduale Reaktion ist ausgeblieben und das Uterusepithel teilweise abgelöst, flach und zeigt basale Vacuolenbildung. Im subepithelialen Stroma treten in erheblicher Zahl pyknotische Kerne auf. Antimesometrial sind ausgedehnte endometriale Gewebsbezirke aufgelöst und mit feingranulierten, eosinophilen Massen ausgefüllt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch die Behandlung mit TP bereits am 6. Tag p.c. Veränderungen sichtbar werden, die entweder auf einer Hemmung der decidualen Vorbereitung zur Implantation oder auf degenerativen Umbauvorgängen beruhen.

Autopsie am 8. Tag der Gravidität

Unbehandelte Kontrolle (Abbildung 1o):

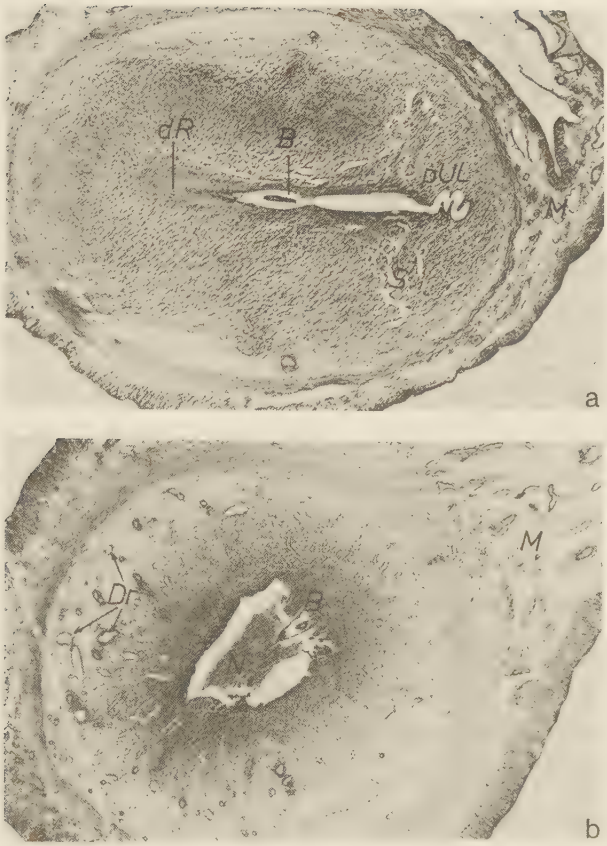
Die Uterusabschnitte, in denen eine Implantation stattfand, sind bereits makroskopisch als ca. steck-

nadelkopfgroße Verdickung erkennbar.

Das von der Eikammer abgetrennte primäre Uterusrestlumen findet sich nur noch nächst dem Mesometrium als kleiner Spalt. Die Eikammer, bereits durch Invagination dreigeteilt, ist dicht von der primären Decidua capsularis umgeben, die sich bis zum basalen Endometrium ausgedehnt und die Uterindrüsen in diesem Bereich vollständig komprimiert hat. Das mesometriale Endometrium besitzt kleine geschrumpfte Zellen und ist von Sinussoiden durchzogen. In der decidualen Höhle sind Blastocyste, "Ektoplazentaler Konus" und Trophoblast sichtbar. Der Trophoblast hat das umliegende Zellmaterial aufgelöst.

o,15 mg TP, behandelt vom 3.-7. Tag der Gravidität (Abbildung 16 a):

Die Uterindrüsen treten stärker hervor. Das Uterus- und Kryptenepithel ist mehrreihig proliferiert. Die Eikammer ist erweitert und das umliegende Endometrium weist eine stärkere Blutfüllung und erhebliche Spalt- und Hohlraumbildung auf.



ad 3.1. Behandlung in der 1. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 16: Uterusquerschnitte, Autopsie am 8. Tag der Gravidität.
a) mit o,15 mg
b) mit o,3 mg Testosteronpropionat vom 3. - 7. Tag der Gravidität
Vergr.: ca. 35 x

Im Vergleich zu Abb. 1o ist zwar auch nach Behandlung die Implantation der Blastocyste (B) eingetreten, jedoch ist die Entwicklung gehemmt und das Endometrium degenerativ verändert.

M = Mesometrium, B = Blastocyste, S = Sinussoide, pUL = primäres Uteruslumen, dR = deciduale Reaktion, Dr = Drüsen, N = nekrotisches Material

o,3 mg TP, behandelt vom 3.-7. Tag der Gravidität (Abbildung 16 b):

Da die Eikammer vom Uterusrestlumen nicht durch den Trophoblasten abgeteilt ist, kommt es zur größeren Hohlraumbildung im Uterus. Die Decidua capsularis ist unvollständig ausgebildet. Nur in der Nähe des Trophoblasten ist eine intakte Decidua erkennbar, ansonsten kommt es an dieser Stelle zur Pyknose der Zellen, Karyorhexis und feinfaseriger Umwandlung der Zellen. In anderen Fällen führte die Behandlung zu Blutansammlungen im Uteruslumen und zur Auflösung des Embryo mit leukozytärer Infiltration und Resorption. Der Epithelzellbelag ist in verschiedenen Bezirken vollständig zerstört. Zusammenfassend kann auch hier wieder festgestellt werden, daß wie schon am 6. Tag p.c. auch am 8. Tag ähnliche jedoch verstärkte Reaktionen durch die TP-Behandlung feststellbar waren. Die Implantation am 7. Tag p.c. ist zwar in allen Fällen noch eingetreten, wobei jedoch die Blastocyste in keinem Fall die für eine normale Weiterentwicklung notwendige Vorbereitung des Endometriums vorfindet.

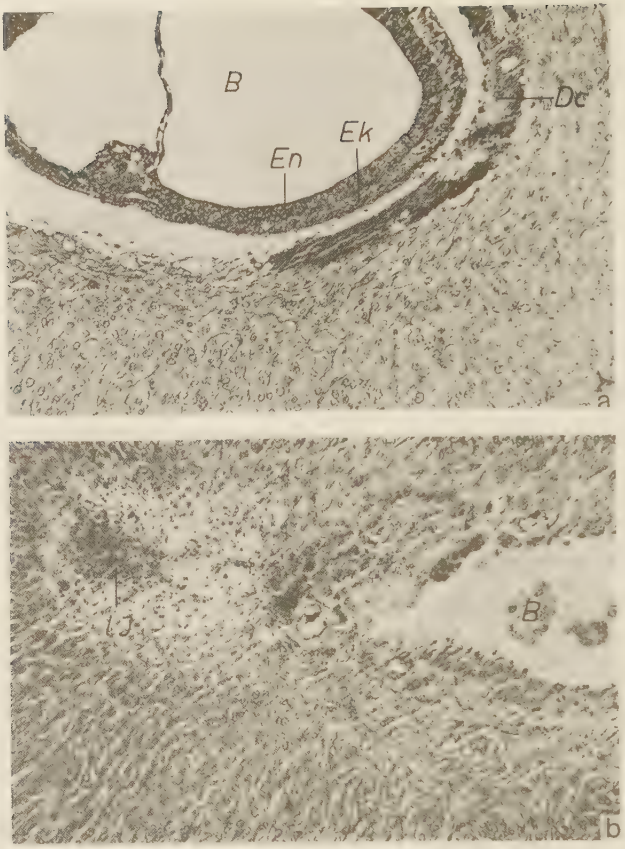
Autopsie am 1o. Tag der Gravidität

Unbehandelte Kontrolle (Abbildung 11 und 17 a):

Der gesamte Uterus ist von decidualem Stroma ausgefüllt, das mesometrial sehr stark von Sinussoiden aufgelockert ist. Die Blastocyste besitzt Ekto- und Entoderm und ist durch Invagination des Ektoderms in einzelne Kammern geteilt. Die Eikammer wird von einer mehrschichtigen spindelförmigen Zellschicht ausgekleidet und von einem zirkulären Randsinus der Decidua capsularis begrenzt. Im Bereich des "Ektoplazentalen Konus" beginnt die Riesenzellproliferation in das Endometrium.

o.15 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 3. - 9. Tag der Gravidität:

Die Zellen der Decidua erscheinen geschrumpft, dadurch kommt es zur Verbreiterung der Sinussoide und zu Spaltbildungen zwischen den Zellen. Im Bereich der Decidua basalis sind große Hohlräume zu finden, die auf eine bevorstehende Lösung der Decidua hinweisen.



ad 3.1. Behandlung in der 1. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 17: Uterusquerschnitte, Autopsie am 1o. Tag der Gravidität.
a) unbehandelt
b) mit o.3 mg/die behandelt vom 3. - 9. Tag der Schwangerschaft
Vergr.: ca. 14o x

Stärkste Regressionserscheinungen nach Behandlung, die Reste der Eikammer mit Zelldetritus angefüllt, Auflösung der Umgebung durch leukocytäre Infiltration.

B = Blastocyste, En + Ek = Ento-, Ektoderm, Dc = Decidua capsularis, lI = leukocytäre Infiltration

o.3 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 3. - 9. Tag der Gravidität (Abbildung 17 b):

Es sind stärkste degenerative Veränderungen zu beobachten. Die Eikammer ist verkleinert und mit Zelldetritus angefüllt. Im Bereich des "Ektoplazentalen Konus" finden sich ausgedehnte Degenerationsherde mit leukozytärer Infiltration. Die antimesometrial gelegene Decidua erscheint aufgelockert.

Eine durch Testosteronpropionat hervorgerufene Schwangerschaftsunterbrechung konnte durch die pathologisch-histologischen Befunde nachgewiesen werden, da sich starke degenerative Veränderungen besonders an der Decidua einstellten.

3. Untersuchungen der histomorphologischen Veränderungen an Foeten, Plazenta und Uterus

3.2. Behandlung in der zweiten Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat:

Die angewandten Dosen von Testosteronpropionat (o.45, o.6 und o.9 mg/Tier/Tag) wirken zum Teil 1oo %ig abortiv (siehe Abschnitt 1.2.). Behandelt wurde vom 11. Tag der Gravidität bis zur Autopsie.

Wie schon im voranstehenden Abschnitt wurden auch hier die gewonnenen histologischen Präparate mit normalen Kontrollpräparaten verglichen.

Autopsie am 13. Tag der Gravidität

Unbehandelte Kontrolle (Abbildung 12):

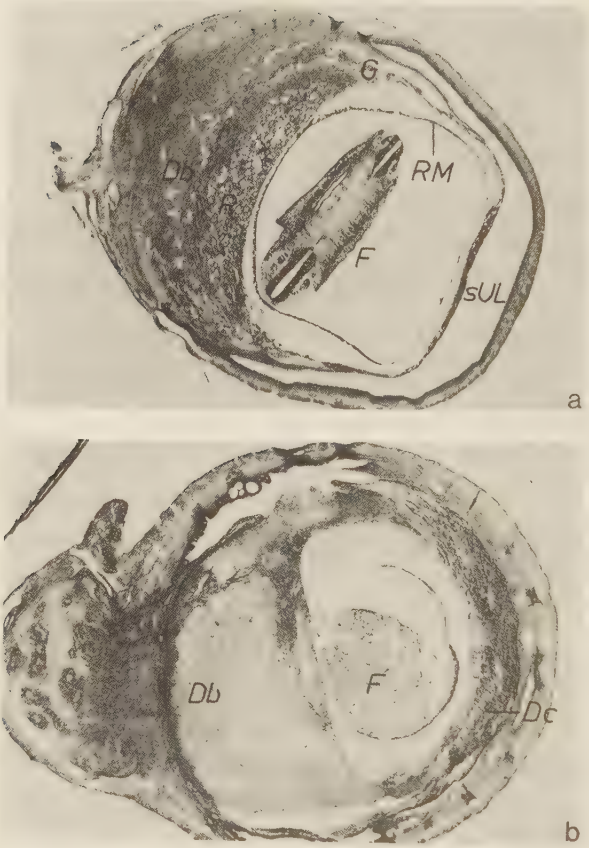
Die funktionelle Plazenta ist gebildet, Decidua basalis, Riesenzellschicht, Reticularis und das Labyrinth sind mesometrial deutlich zu unterscheiden. Im Labyrinth sind die mütterlichen Lacunen schon von den Allantois-Zotten mit foetalen Gefäßen umgeben. Die Versorgung des Embryo erfolgt noch zum Teil über die primär ausgebildete Decidua capsularis, die einerseits von der "Reichert'schen Membran" und andererseits von dem "Splanchnopleur visceralis" des Dottersackes begrenzt wird. Der Embryo wird im Innern des Dottersacks von dem einschichtigen Amnion umgeben. Submyometrial gegenüber dem Mesometrium beginnt sich das sekundäre Uteruslumen auszubilden. Am Embryo sind schon verschiedene Organanlagen deutlich zu erkennen.

o,45 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 11.-12. Tag der Gravidität (Abbildung 18 a)

Das sekundäre Uteruslumen ist wesentlich erweitert. Im Bereich der Riesenzellschicht finden sich flächenhafte Nekrosen und eine Erweiterung der maternalen Sinussoide. Die Decidua basalis zeigt eine verwaschene Zellstruktur, die Reticularis ist ödematös gequollen. Die foetalen Kapillaren sind erweitert. An verschiedenen Stellen ist die "Reichert'sche Membran" von der Riesenzellschicht abgelöst.

o,6 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 11.-12. Tag der Gravidität

Es zeigen sich ähnliche Veränderungen wie in der vorigen Gruppe jedoch in verstärktem Ausmaß. Zwischen der "Reichert'schen Membran"und der Decidua finden sich ausgedehnte Blutseen, desgleichen am Übergang der Decidua capsularis in die basalis. Das sekundäre Uteruslumen ist sehr weit und von einem



ad 3.2. Behandlung in der 2. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 18: Uterusquerschnitte, Autopsie am 13. Tag der Gravidität.
a) mit o.45 mg
b) mit o.9 mg/die behandelt vom 11. - 12. Tag der Gravidität
Vergr.: ca. 14 x

Bereits nach 2tägiger Behandlung deutlich sichtbare Regressionserscheinungen am Foet, Dottersack und Placenta.

F = Foet, RM = Reichert'sche Membran, sUL = sekundäres Uteruslumen, G ="giant cells" = Riesenzellschicht, R = Reticularis, Db = Decidua basalis, Dc = Decidua capsularis

mehrschichtigen Epithel mit beginnender Faltenbildung ausgekleidet. Die Riesenzellschicht degeneriert besonders im nicht decidualen Bereich.

o,9 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 11.-12. Tag der Gravidität (Abbildung 18 b)

Hier reichen die Veränderungen bis zur vollständigen Nekrose der Decidua basalis, die sich in die capsularis fortsetzen. Im Dottersack befindet sich ein ungeordnetes Zellkonglomerat, an dem keinerlei Konturen des Embryos mehr zu erkennen sind. Das Labyrinth ist nicht ausgebildet, die Reticularis von verwaschener Zellstruktur mit stark erweiterten Gefäßen.

Zusammenfassend: Es werden bereits zwei Tage nach Behandlungsbeginn ansteigend mit der Höhe der Dosierung schwerste degenerative Veränderungen sichtbar, die sich an Embryo, Dottersack und Decidua manifestieren.

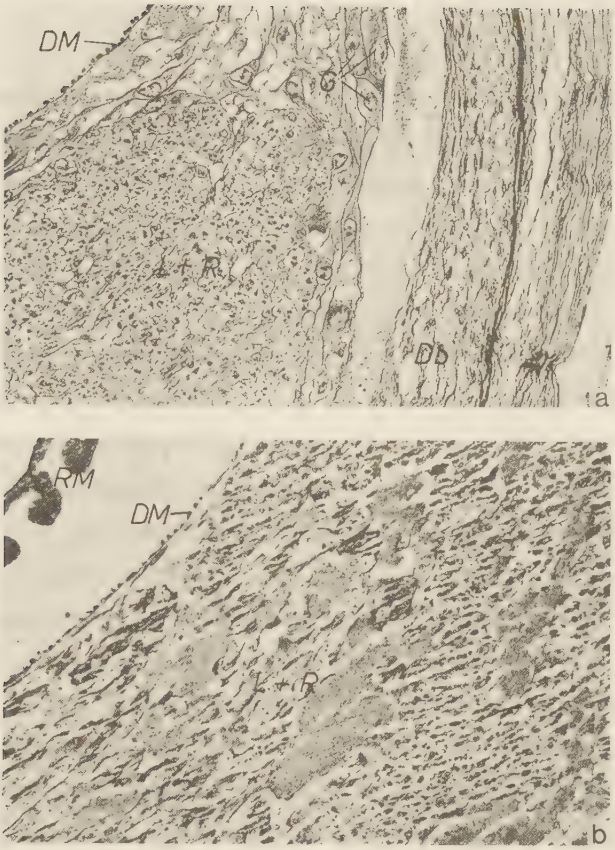
Autopsie am 15. Tag der Gravidität

Unbehandelte Kontrolle (Abbildung 13 und 19 a):

Das sekundäre Uteruslumen hat sich auf der antimesometrialen Seite ausgebildet und schiebt sich weit in die basale Randzone der Plazenta vor. Die mütterliche Blutversorgung der Plazenta verläuft deutlich über mesometriale Gefäße, die in die Decidua basalis einstrahlen. Nach Bildung der funktionellen Plazenta ist die Decidua capsularis bedeutungslos und wird bis zu diesem Zeitpunkt vollständig aufgelöst. In und unterhalb der Riesenzellschicht ist das Gewebe stark aufgelockert und von Hohlräumen durchsetzt. Die maternalen Lacunen des Labyrinths sind nur gering mit Blut gefüllt. Von einem über die Basis des Labyrinths reichenden Randsinus sind die Allantois-Zotten mit den foetalen Gefäßen tief in das Labyrinth eingewachsen.

o,45 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 11.-14. Tag der Gravidität

Neben nekrotisch aufgelösten finden sich auch normal entwickelte Foeten. An verschiedenen Bezirken der Plazenta sind degenerative Veränderungen, Fehlentwicklungen und Entwicklungstörungen zu erkennen.



ad 3.2. Behandlung in der 2. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 19: Uterusquerschnitte, Autopsie am 15. Tag der Gravidität.
a) unbehandelt
b) mit o.9 mg/die behandelt vom 11. - 14. Tag der Gravidität
Vergr.: ca. 14o x

In den seitlichen Placentabezirken sind ausgeprägte flächenhafte Nekrosen sichtbar.

DM = Dottersackmembran, RM = Reichert'sche Membran, G = Riesenzellen, Db = Decidua basalis, L + R= Ausläufer von Labyrinth und Reticularis

Auffällig sind nekrobiotische Bezirke in der Decidua basalis und der Riesenzellschicht mit hochgradiger Kernpolymorphie und Kernsprossungen der Riesenzellen. Bei abgestorbenen Foeten sind die in das Labyrinth eingesprossten foetalen Kapillaren weitgehend kollabiert. Gegenüber den Kontrollen ist das sekundäre Uteruslumen vergrößert und weiter in den Bereich der Plazenta vorgeschoben.

o,6 oder o,9 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 11.-14. Tag der Gravidität (Abbildung 19 b)

Trotz der höheren Testosteronpropionatdosis ist gegenüber der vorigen Gruppe kein gleichmäßiger Anstieg der degenerativen Veränderung erkennbar.
Die Decidua basalis verschmälert sich und wird ödematös. In der Riesenzellschicht und im Labyrinth finden sich flächenhafte Nekrosen, die in den seitlichen Plazentabezirken deutlich ausgeprägt sind.
Bei vollständigem Verlust des Foeten ist das sekundäre Uteruslumen weiter ausgedehnt und mit erheblich proliferierter Schleimhaut ausgekleidet.

Über das Ergebnis einer Behandlung bis zum 15. Tag der Gravidität kann ausgesagt werden, daß die degenerativen Veränderungen bis zur vollständigen Auflösung und Resorption der Foeten geführt hat.

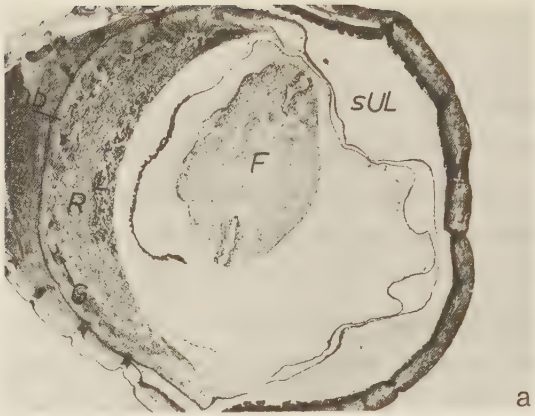
Autopsie am 17. Tag der Gravidität

Unbehandelte Kontrolle (Abbildung 13):

Das sekundäre Uteruslumen ist weit, von Uterusepithel und Dottersackwand ausgekleidet. Von der Decidua besteht nur nächst dem Mesometrium ein schmaler Saum der Decidua basalis. Der Embryo ist über die weit in das Labyrinth eingewachsenen Allantois-Gefäße mit der Plazenta fest verbunden. Die einzelnen Zellzonen der Plazenta sind vollständig differenziert. Die Riesenzellschicht ist durch Spaltbildung erheblich aufgelockert, als Vorbereitung der Plazentalösung bei der Geburt.

o,45 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 11.-16. Tag der Gravidität (Abbildung 2o a)

Der Foet ist stark nekrotisch verändert und nur noch



ad 3.2. Behandlung in der 2. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 2o: Uterusquerschnitte, Autopsie am 17. Tag der Gravidität.
a) mit o.45 mg
b) mit o.6 mg/die behandelt vom 11. - 16. Tag der Schwangerschaft
Vergr.: ca. 14 x

Foeten sind fast stets vollständig resorbiert, ausgedehnte Nekrosen in Decidua basalis und Riesenzellschicht, Labyrinth und Reticularis sind nur schwer zu unterscheiden, Epithelproliferation im sekundären Uteruslumen.

F = Foet, Db = Decidua basalis, R = Reticularis, L = Labyrinth, sUL = sekundäres Uteruslumen, EP = Epithelproliferation, -> = Nekrosen

in seinen äußeren Konturen erkennbar. Der gesamte Dottersack ist mit Zelldetritus angefüllt. Das Labyrinth ist in seiner Schichtdicke reduziert und nicht von foetalen Blutgefäßen durchsetzt. In den seitlichen Randzonen der Plazenta degenerieren die Riesenzellen mit Kernpyknosen und Zellauflösungen.

o,6 oder o,9 mg Testosteronpropionat, behandelt vom 11.-16. Tag der Gravidität (Abbildung 2o b)

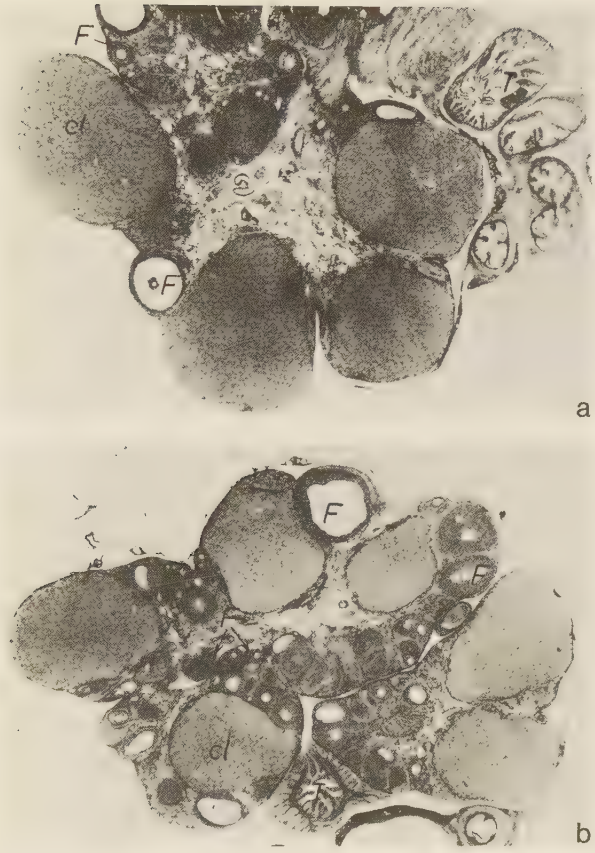
Entsprechend der höheren Konzentration kommt es zu ähnlichen, jedoch wesentlich stärkeren Veränderungen als in der voranstehenden Gruppe. Der Embryo ist meistens in vollständiger Resorption begriffen. In der Decidua basalis kommt es zu einer ödematösen Auflokkerung, während die folgenden Gewebszonen großflächige Nekrosen aufweisen.

Bei der Behandlung mit Testosteronpropionat vom 11.-16. Tag in geeigneten Dosen konnte durch die pathologisch-histologischen Befunde der Abbruch der Schwangerschaft bewiesen werden. Die beschriebenen schweren

degenerativen Veränderungen an Foet und Plazenta erklären den hervorgerufenen Abort, bzw. die Unterbrechung der Schwangerschaft.

Histomorphologie der Ovarien (Behandlung der Tiere wie unter 3.1. und 3.2. beschrieben)

Neben den besprochenen histologischen Uterusprä-paraten wurden stets die Ovarien der Tiere der histologischen Aufarbeitung zugeführt, um behandlungsabhängige Veränderungen nachzuweisen.
In den Abbildungen 21 und 22 werden einige Aufnahmen von Ovarien gezeigt. Wie schon im voranstehenden Abschnitt beschrieben, wurden auch hier die Tiere bis zum Tag der Autopsie behandelt und die Ergebnisse durch Vergleich mit Kontrolltieren gewonnen.
Veränderungen an den Ovarien hätten sich wahrscheinlich in erster Linie an den für die gesamte Schwangerschaft der Ratte notwendigen Corpora lutea graviditatis abgespielt, deshalb wurde das besondere Augenmerk auf die Gelbkörper gerichtet.
Bei der histologischen Untersuchung der Ovarien fanden sich neben den stets vorhandenen, voll ausgereif-

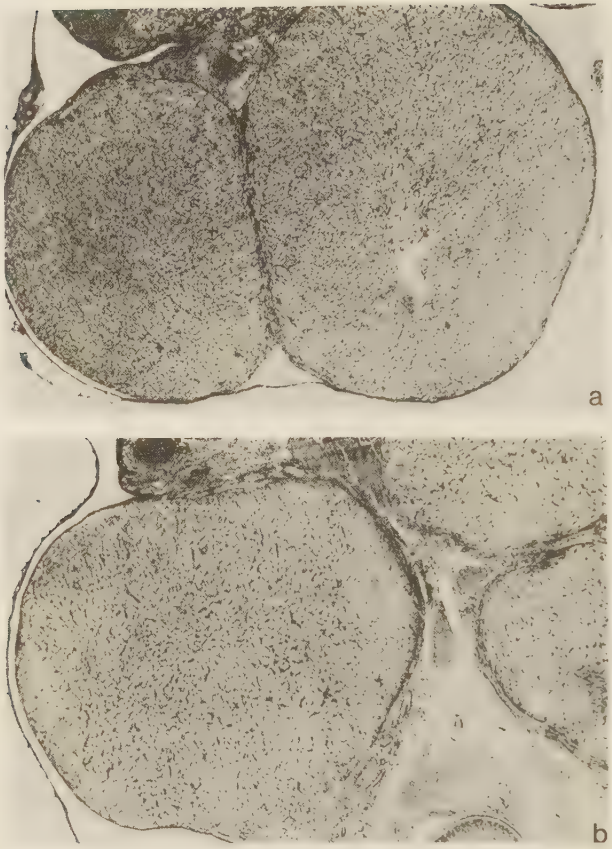


ad 3.1. Behandlung in der 1. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 21: Ovarschnitte, Autopsie am 1o. Tag der Gravidität.
a) unbehandelt
b) mit o.3 mg/die behandelt vom 3. - 9. Tag der Schwangerschaft
Vergr.: ca. 22 x

Beim Vergleich lassen sich keine Veränderungen an Zahl, Größe und Struktur der corpora lutea erkennen.

cl = corpus luteum, T = Tuben, F = Follikel in verschiedenen Stadien



ad 3.2. Behandlung in der 2. Hälfte der Gravidität mit Testosteronpropionat

Abb. 22: Ovarschnitte, Autopsie am 17. Tag der Gravidität.
a) unbehandelt
b) mit o.9 mg/die behandelt vom 11. - 16. Tag der Schwangerschaft
Vergr.: ca. 45 x

Auch nach dieser Behandlung keine Resorption bzw. Regression der corpora lutea.

ten Gelbkörpern auch atrophische Corpora albicantes, Follikel in allen Stadien und die angeschnittenen Tuben.

Zwischen den Corpora lutea der unbehandelten Kontrollen und den behandelten Tieren war kein deutlicher Unterschied festzustellen. Sowohl in der ersten Hälfte (Abbildung 21 a,b) als auch in der zweiten Hälfte (Abbildung 22 a,b) der Schwangerschaft ließen sich in keinem Fall nach einer Behandlung mit der 1oo %igen "foetotoxisch" wirkenden Dosis von Testosteronpropionat Resorption oder Regression der Gelbkörper erzielen.

Aus der Begutachtung der Ovarien kann der Schluß gezogen werden, daß die Behandlung mit Testosteronpropionat, die zu einer Unterbrechung der Schwangerschaft führt, vermutlich nicht über eine Hemmung der Gelbkörperfunktion zustande kommt, d.h. nicht über eine Hemmung der Progesteronsynthese.

IV. DISKUSSION

Bei der Gabe vom 3. - 9. Tag der Gravidität waren alle untersuchten Steroide mit Ausnahme des natürlichen Gelbkörperhormon - Progesteron - im unterschiedlichen Ausmaß foetotoxisch wirksam.
Die foetotoxische Wirkung von Androgenen durch Behandlung vor dem Implantationstermin ist bekannt (DREISBACH 1959; HAMILTON & WOLFE 1938; COURRIER & GROS 1938; DESAULLES & KRÄHENBÜHL 1964). So wie von HAMILTON & WOLFE bereits 1938 beschrieben, führt schon eine tägliche Dosis von o.6 mg Testosteronpropionat bei allen Versuchstieren zu einer Schwangerschaftsunterbrechung. Von den untersuchten Androgenen ist Testosteronpropionat am stärksten foetotoxisch wirksam. Die Wirkung von Testosteronpropionat ist durch gleichzeitige Gabe von Cyproteron kaum aufhebbar. Nur bei den hohen Dosen (o.3, o.4 und o.6 mg) zeigt sich ein geringgradiger Antagonismus. Bei gleichzeitiger Gabe von Progesteron war dagegen bei nahezu allen Testosteronpropionatdosen die foetotoxische Wirkung abgeschwächt.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß die foetotoxische Wirkung von Testosteronpropionat höchstens teilweise mit der androgenen Wirksamkeit dieses Steroids korreliert sein kann, denn andernfalls hätte man eine deutliche Abschwächung der Wirkung bei gleichzeitiger Gabe von Cyproteron erwartet. Andererseits wurde die foetotoxische Wirkung des Testosteronpropionats durch gleichzeitige Progesterongaben deutlich abgeschwächt, obwohl Progesteron kaum antiandrogene Eigenschaften besitzt. Es ergeben sich daraus zwei Möglichkeiten für das Zustandekommen des foetotoxischen Effektes von Testosteronpropionat.

1. Könnte dieser Effekt von Testosteronpropionat auf eine Hemmung der gonadotropen Partialfunktion der Hypophyse zurückzuführen sein. Ein Mangel an Gonadotropinen würde zu einer Unterfunktion der Corpora lutea und damit zu einem Progesterondefizit führen. Durch Gabe von Progesteron wird das Progesterondefizit zumindest teilweise wieder ausgeglichen.

2. Ist denkbar, daß Testosteronpropionat in den Ovarien zu einem gewissen Teil in Östrogene metabolisiert wird, und daß dadurch das für den normalen Schwangerschaftsablauf notwendige Östrogen-/Progesterongleichgewicht verschoben wird. Auch in diesem Falle kann man annehmen, daß durch exogene Gabe von Progesteron das Östrogen-/Progesterongleichgewicht zumindest teilweise wieder hergestellt werden kann.

Die Metabolisierung von Androgenen in Östrogene im Ovar ist durch verschiedene in vitro und in vivo Untersuchungen zum Teil unter Verwendung radioaktiver Substanzen nachgewiesen worden (LEUTHARDT 1963; HARPER 1967; HOUTZAGER et al. 197o; AXELROD & GOLDZIEHER 1967). HARPER berichtete 1967 über seine Untersuchungen mit Androstendion, das die Schwangerschaft im Preimplantationsstadium zu unterbrechen vermag und dessen Wirkung gleichfalls durch Progesteron aufhebbar war. Im übrigen sei noch einmal darauf hingewiesen, daß die Hauptbiosynthesewege für Östrogene im Ovar über Androgene in den Intermediärstufen führen.

In Untersuchungen an hypophysektomierten und kastrierten Tieren wurde dieser Überlegung weiter nachgegangen. Hypophysektomie oder Kastration vor dem 16. Tag der Gravidität führt zum Foetaltod innerhalb von 48 Stunden und damit zum Abbruch der Schwangerschaft (PARKES 1966; NEUMANN 1968; ALLEN & CORNER 1929; ZEINER 1943). Durch Substitution mit Progesteron (1o mg) und Östron (1µg) kann auch bei hypophysektomierten und kastrierten Tieren die Schwangerschaft erhalten werden (ZEINER 1943; ALEXANDER & FRAZER 1954; ALEXANDER et al. 1955; SUCHOWSKI & JUNKMANN 1958). Wenn der foetotoxische Effekt von Testosteronpropionat nur oder überwiegend durch in den Ovarien entstehende östrogene Metabolite zustandekommt, so sollte die Schwangerschaft bei kastrierten Tieren durch gleichzeitige optimale Substitution mit Progesteron und Östron, auch bei Gabe von extrem hohen Testosteronpropionatdosen, nicht gestört werden. Diese Überlegung erwies sich in weiteren Untersuchungen als richtig, denn es zeigte sich, daß selbst bei einer Behandlung mit täglich o,6 - o,9 mg Testosteronpropionat vom 11. - 16. Tag der Gravidität, Dosen, die bei den Versuchen mit intakten Tieren stets foetotoxisch wirksam waren, keine Hemmung der

Schwangerschaft auftrat. Dagegen war Testosteronpropionat bei nur hypophysektomierten, mit Progesteron und Östron substituierten Tieren voll foetotoxisch wirksam.

Daraus kann geschlossen werden, daß die foetotoxische Wirkung von Testosteronpropionat nicht über eine Hemmung der Hypophysenfunktion zustandekommt, sondern daß die Ovarien der primäre Ort sind,die die foetotoxischen Effekte von Testosteronpropionat letztlich katalysieren (wahrscheinlich entstehen in den Ovarien aus Testosteronpropionat östrogen wirksame Metabolite, die dann ihrerseits foetotoxisch wirken).

Außerdem beweist das Ergebnis an kastrierten Tieren, daß Testosteronpropionat nicht wie angenommen (COURRIER & JOST 1944; JOST 1945), über einen direkten foetotoxischen Effekt an Foeten, Placenta und Uterus wirkt.

Testosteronpropionat ist auch in späteren Schwangerschaftsstadien foetotoxisch wirksam wie andere Untersuchungen gezeigt haben (DREISBACH 1959; SCIPIADES 1937; COURRIER & JOST 1944;JOST 1945).

In unserem Falle waren bei der Behandlung vom 11. - 16. Tag der Gravidität nur geringfügig höhere Testosteronpropionatdosen notwendig als bei Behandlung zum Zeitpunkt der Implantation. Auch hierbei zeigte sich, daß Cyproteron nur bei den hohen Testosteronpropionatdosierungen in der Lage war, den foetotoxischen Effekt geringgradig abzuschwächen. In späteren Schwangerschaftsstadien kann die foetotoxische Wirksamkeit von Testosteronpropionat durch gleichzeitige Progesterongaben nicht mehr abgeschwächt werden.
Methyltestosteron ist sehr wahrscheinlich vorwiegend aufgrund seiner Androgenität foetotoxisch. Dafür spricht die weitgehende Aufhebbarkeit der Wirkung durch Cyproteron (in Kombination mit Progesteron wurde Methyltestosteron nicht geprüft). Östradiol war erfahrungsgemäß sehr stark foetotoxisch wirksam. Die Wirkung konnte - wie zu erwarten war - durch Cyproteron nicht aufgehoben werden.
Bereits ALLEN & CORNER (1929) stellten 1928 fest, daß für die Vorbereitung der Implantation das Zusammenwirken von Progesteron und Östrogenen erforderlich ist. Bei LEUTHARDT (1963) findet sich, daß je nach Tierart das für die Gravidität erforderliche Verhältnis von Östrogenen zu Progesteron in

einem Bereich von 1:1ooo bis 1:2ooo liegt. Da die Zufuhr von Östrogenen schwangerschaftshemmend bis in das Postimplantationsstadium wirkt, erklärten viele Untersucher diesen Effekt mit einer Verschiebung des physiologischen Östrogen-/Progesteron-Gleichgewichts (D'AMOUR & GUSTAVSON 1934; BANIK & PINCUS 1962; CHANG & YANAGIMACHI 1965; ODENDAAL 1944; NEUMANN 1966).

Die gleichzeitige Gabe von Progesteron führt zu einer Abschwächung der foetotoxischen Wirkung des Östradiols. Sie stellt demnach eine Art Substitutionsbehandlung dar, die das für den normalen Ablauf der Schwangerschaft erforderliche Östrogen-/Progesteron-Gleichgewicht zumindest teilweise wiederherstellt. EDGREN et al. (1961) stellten 1961 ebenfalls in einer Untersuchung an Ratten fest, daß eine östrogeninduzierte Implantationshemmung durch Progesteron teilweise aufhebbar ist.

Das natürliche Gelbkörperhormon - Progesteron - war in unserem Modell nicht foetotoxisch wirksam, wohl aber die beiden untersuchten synthetischen Gestagene Norethisteronacetat und Medroxyprogesteronacetat, wobei Norethisteronacetat bei einer Dosis von 4 mg

täglich sowohl bei subkutaner als auch oraler Applikation wirksam war. Während die Schwangerschaftsunterbrechung durch Behandlung mit Medroxyprogesteronacetat zur Zeit des Eitransportes, vor und nach der Implantation beschrieben wird (NEUMANN 1968; CHANG 1966 b), finden sich keine Untersuchungen mit Norethisteronacetat.
Die beiden untersuchten synthetischen Gestagene sind in verschiedenen Standard-Gestagentesten erheblich stärker wirksam als Progesteron (NEUMANN 1968; NEUMANN et al. 1964). Neben seiner starken gestagenen Wirksamkeit besitzt Norethisteronacetat auch östrogene und deutlich androgene Aktivität(NEUMANN 1968). Medroxyprogesteronacetat ist nicht östrogen und in klassischen Androgentesten auch nicht androgen, virilisiert jedoch weibliche Rattenfoeten, wenn es an die graviden Mütter verabfolgt wird (NEUMANN 1968). Die foetotoxische Wirkung von Norethisteronacetat wird durch gleichzeitige Gabe von Cyproteron nur äußerst geringgradig abgeschwächt, so daß daraus geschlossen werden kann, daß der foetotoxische Effekt nicht oder kaum an die androgene Partialwirkung dieses Gestagens gebunden sein kann.

Vieles spricht dafür, daß die östrogene Teilwirkung dafür verantwortlich ist. Es wäre zu untersuchen, inwieweit durch gleichzeitige Gabe von Progesteron die foetotoxische Wirkung dieses Steroids abgeschwächt werden kann. Es sollte aufgrund dieser Überlegung der Fall sein.
Die Wirkung von Medroxyprogesteronacetat wird durch gleichzeitige Gabe von Cyproteron in hohem Maße abgeschwächt bzw. auch vollständig aufgehoben. Dies war für uns nicht überraschend, denn wenn dieses Gestagen auch in klassischen Testen nicht androgen wirksam ist (CUPCEANCU & NEUMANN 1969), so besitzt es doch virilisierende Eigenschaften, bei denen es sich um eine spezifische Androgenwirkung handeln muß. Denn auch die virilisierende Wirkung von Medroxyprogesteronacetat ist durch subkutane Gabe eines Antiandrogens vollständig oder weitgehend hemmbar. Übrigens sind noch andere Effekte von Medroxyprogesteronacetat wie z.B. die antiovulatorische Wirksamkeit (NEUMANN et al. 1966) oder die Hemmwirkung auf die Hodenfunktion (NEUMANN unpubliziert) durch gleichzeitige Gabe eines Antiandrogens hemmbar.

In einer gesonderten Untersuchung wurden die histomorphologischen Veränderungen an Uterus und Placenta nach Behandlung gravider Ratten mit Testosteronpropionat vom 3. - 9. Tag bzw. 11. - 16. Tag beschrieben. Bei Behandlung vom 3. - 9. Tag zeigte sich ansteigend mit der Verabfolgung der Dosis und der Dauer der Applikation neben einer verminderten decidualen Reaktion, alle Grade der Implantationshemmung bis zur vollständig ausgebliebenen Nidation. Nach normal abgelaufener Implantation und fast beendeter Placentation führte die Behandlung vom 11. - 16. Tag schnell zu Regressionserscheinungen bzw. Resorption der Foeten, während stärkere Veränderungen an den placentaren Strukturen erst etwas später deutlich sichtbar waren. Bei der histologischen Begutachtung der Ovarien, zeigte sich beim Vergleich behandelter und unbehandelter Tiere in keinem Falle eine histologische Veränderung. Dieses Ergebnis steht nur scheinbar im Gegensatz zu anderen Untersuchungen (COURRIER & GROS 1938; BURDICK & EMERSON 1939; JOST 1945; DESAULLES & KRÄHENBÜHL 1964), die über eine Hemmung und Resorption der Corpora lutea bzw. die

Umwandlung in Corpora albicantes berichtet haben. Dies dürfte ausschließlich vom Zeitpunkt der Autopsie nach Abbruch der Schwangerschaft abhängig sein, denn mit Sicherheit ist einige Zeit nach Abbruch der Schwangerschaft mit einer Resorption der Corpora lutea zu rechnen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die foetotoxische Wirkung von 5 verschiedenen Steroiden an schwangeren Ratten untersucht: Testosteronpropionat, Methyltestosteron, Östradiol und die synthetischen Gestagene Norethisteronacetat und Medroxyprogesteronacetat. Diese Steroide führten in geeigneter Dosierung bei Behandlung vom 3. - 9. Tag der Gravidität stets zu einer Unterbrechung der Schwangerschaft.

Exogene Zufuhr von Östradiol führte zum Schwangerschaftsabbruch durch eine Verschiebung des physiologischen Östrogen/Progesteron-Gleichgewichts, denn durch Substitution mit Progesteron konnte der Östrogeneffekt teilweise verhindert werden.

Cyproteron konnte die foetotoxische Wirkung von Methyltestosteron und Medroxyprogesteronacetat deutlich, von Testosteronpropionat kaum, und von Östradiol und Norethisteronacetat überhaupt nicht aufheben. Durch Progesteronsubstitution konnte auch die Wirkung des Testosteronpropionats teilweise aufgehoben werden.

Aufgrund der Tatsache, daß die Wirkung von Testosteronpropionat stärker durch Progesteron als durch Cypro-

teron abgeschwächt werden konnte, kann angenommen werden, daß der foetotoxische Effekt von Testosteronpropionat über östrogene Metaboliten zustande kommt, die in den Ovarien entstehen. Für die Richtigkeit dieser Annahme sprechen Untersuchungen an hypophysektomierten oder kastrierten Tieren. Bei hypophysektomierten oder kastrierten Tieren läßt sich die Schwangerschaft durch Substitution mit Östrogenen und Progesteron aufrechterhalten. Bei kastrierten und entsprechend substituierten Tieren wirkt Testosteronpropionat nicht mehr foetotoxisch, wohl aber bei nur hypophysektomierten Tieren, d.h. nur bei Vorhandensein der Ovarien.

In einer gesonderten Untersuchung wurden die histomorphologischen Veränderungen nach Testosteronpropionat-Behandlung in zeitlichen Abständen an Foeten und Placenta beschrieben. Bei Behandlung vor der Implantation zeigte sich eine deutlich abgeschwächte deciduale Reaktion; im Postimplantationsstadium waren degenerative Vorgänge an der Placenta und am Foeten zu beobachten, die zum Abbruch der Schwangerschaft führten. An den Ovarien der behandelten Tiere konnten keine groben Veränderungen gefunden werden.

VI. LITERATUR

Abe, T., and E. Kaneko: Pregnancy disturbances in rats by the administration of large doses of sex hormones.
Endocr. jap. 8, 184-198 (1961)

Alexander, D.P., and J.F.D. Frazer: Effect of spaying in the pregnant rat.
J. Physiol. (Lond.) 124, 36 P (1954)

Alexander, D.P., J.F.D. Frazer, and J. Lee: The effect of steroids on the maintenance of pregnancy in the spayed rat.
J. Physiol. (Lond.) 130, 148 (1955)

Allen, W.M., and C.W. Corner: Physiology of the corpus luteum. Normal growth and implantation of embryos after very early ablation of the ovaries under the influence of extracts of corpus luteum.
Amer.J. Physiol. 88, 340 (1929)

Axelrod, L.R., and J.W. Goldzieher: The polycystic ovary. VIII. The metabolism of 5-pregnenolone, progesterone, testosterone, 4-androstenedione and oestrone by normal and polycystic ovarian tissues.
Acta endocr. (Kbh.) 56, 255-271 (1967)

Banik, U.K., and G. Pincus: Effect of steroidal anti-progestins on implantation of fertilized eggs of rats and mice.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 111, 595-602 (1962)

Banik, U.K., and G. Pincus: Estrogens and transport of ova in the rat.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 116, 1032-1034 (1964)

Burdick, H.O.: Effect of progesterone on the ovaries and embryos of mice in early pregnancy. Endocrinology 30, 619-622 (1942)

Burdick, H.O., and B. Emerson: Repression and resorption of the corpora lutea of early pregnancy following injections of testosterone propionate. Endocrinology 25, 913-918 (1939)

Burdick, H.O., B. Emerson, and R. Whitney: Effects of testosterone propionate on pregnancy and on passage of ova through the oviducts of mice. Endocrinology 26, 1081 (1940)

Burdick, H.O., and R. Whitney: Acceleration of the rate of passages of fertilized ova through the fallopian tubes of mice by massive injections of an estrogenic substance. Endocrinology 21, 637-643 (1937)

Burdick, H.O., and R. Whitney: Fate of ova accelerated in their rate of passage through the fallopian tubes of mice by massive injections of progynon-B. Endocrinology 22, 631 (1938)

Chambon, Y.: Besoin oestro-prgesteronique liminaire de l'ovoimplantation et de la reaction deciduate chez la lapine. C.R.Soc.Biol. (Paris) 143, 453-457 (1949)

Chang, M.C.: Effects of certain antifertility agents on the development of rabbit ova. Fertil. and Steril. 15, 97-106 (1964)

Chang, M.C.: Transport of eggs from the fallopian tube to the uterus as a function of oestrogen. Nature (Lond.) 212, 1048-1049 (1966 a)

Chang, M.C.: Effects of oral administration of medroxyprogesterone acetate and ethinyl estradiol on the transportation and development of rabbit eggs.
Endocrinology 79, 939-948 (1966 b)

Chang, M.C.: Effects of progesterone and related compounds on fertilization transportation and development of rabbit eggs.
Endocrinology 81, 1251-1260 (1968)

Chang, M.C., and R. Yanagimachi: Effect of estrogens and other compounds as oral antifertility agents on the development of rabbit ova and hamster embryos.
Fertil. and Steril. 16, 281-291 (1965)

Cohrs, P., R. Jaffe, und H. Meessen: Pathologie der Laboratoriumstiere. Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1958

Courrier, R. et G. Gros: Influence du propionate de testosterone sur l'uterus.
C.R.Soc.Biol. (Paris) 127, 921-923 (1938)

Courrier, R. et A. Jost: Action du propionate de testosterone sur la gestation chez la lapine.
C.R.Soc.Biol. (Paris) 138, 285-287 (1944)

Courrier, R. et R. Raynaud: Experience d'antagonisme humoral ovarien realisees avec l'etaton internationele de folliculine cristalisee.
C.R.Soc.Biol. (Paris) 115, 299 (1934)

Cupceancu, B. und F. Neumann: Sensibilitätsunterschiede der verschiedenen Strukturen des Genitaltraktes von weiblichen Rattenfoeten unter dem Einfluß von Medroxyprogesteronacetat oder Norethisteronacetat.
Endokrinologie 54, 66-80 (1969)

D'Amour, F.E., M.C. D'Amour, and R.G. Gustavson:
Effects of estrin and other hormones upon pregnancy.
J. Pharmacol.exp.Ther. 49, 146-161 (1933)

D'Amour, F.E., and R.G. Gustavon: A histological study of the action of estrin in terminating pregnancy.
J. Pharmacol. 51, 353-359 (1934)

Desaulles, P.A., and C. Krähenbühl: Comparison of the anti-fertility and sex hormonal activities of sex hormones and their derivatives.
Acta endocr. (Kbh.) 47, 444-456 (1964)

Dreisbach, R.H.: The effects of steroid sex hormones on pregnant rats.
J. Endocr. 18, 271-277 (1959)

Edgren, R.A., A. Peterson, M.A. Johnson, and G.C. Shipley: Possible progesterone-blockage of estrogen-induced interuption of pregnancy in rats.
Fertil. and Steril. 12, 172-177 (1961)

Edgren, R.A., and G.C. Shipley: A quantitative study of the termination of pregnancy in rats with estrone.
Fertil. and Steril. 12, 178-181 (1961)

Elger, W., F. Neumann, H. Steinbeck, and J.D. Hahn: The significance of hormones in mammalian sex differentiation as evidenced by experiments with synthetic androgens and anti-androgen.
21. Mosbacher Koll.d.Ges. für Biologische Chemie "Mammalian Reproduction", Mosbach 197o.

Greenwald, G.S.: Interruption of pregnancy in the rabbit by the administration of estrogen.
J.exp.Zool. 135, 461-481 (1957)

Greenwald, G.S.: The comperative effectiveness of estrogens in interrupting pregnancy in the rabbit.
Fertil. and Steril. 1o, 155-161 (1959)

Greenwald, G.S.: Interruption of early pregnancy in the rabbit by a single injection of oestradiol cyclopentylpropionate.
J. Endocr. 26, 133-138 (1963)

Hamilton, J.B., and J.M. Wolfe: The effect of male hormone substances upon birth and prenatal development in the rat.
Anat.Rec. 7o, 433-44o (1938)

Harper, M.J.K.: Effects of androstenedione on pre-implantation stages of pregnancy in rats.
Endocrinology 81, 1o91 (1967)

Heckel, G.P., and W.M. Allen: Maintenance of the corpus luteum and inhibition of parturition in the rabbit by injection of estrogenic hormone.
Endocrinology 24, 137-148 (1939)

Houtzager, H.L., H.A. van Leusden, and M. Siemerink: Conversion of androgens into oestrogens by hydatidiform males in vitro.
Acta endocr. (Kbh.) 64, 17-37 (197o)

Huggett, A.St. G., and J.J. Pritchard: Experimental foetal death. The survioing placenta.
Proc.Roy.Soc.Med. 38, 261-266 (1945)

Jost, A.: Action du propionate de testosterone sur la gestation chez la souris.
C.R.Soc.Biol. (Paris) 139, 483-485 (1945)

Kelly, G.L.: The effect of injections of female sex hormone (oestrin) on conception and pregnancy in the guinea pig.
Sur.,Gynec. and Obstet. 52, 713-722 (1931)

Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 15. Auflage, de Gruyter-Verlag 1963

Martin, L., C.W. Emmens, and R.I. Cox: The effects of oestrogens and anti-oestrogens on early pregnancy in mice. J. Endocr. 2o, 299-3o6 (196o)

Neumann, F.: Methods for evaluating antisexual hormones. Methods in Drug Evaluation North-Holland Publishing Comp. S. 548-573 (1966)

Neumann, F.: Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung. In: K. Junkmann (ed.): "Gestagene", Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 22/1, Kapitel VI, S. 68o-1o25. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York. 1968

Neumann, F., R. von Berswordt-Wallrabe, W. Elger, H. Steinbeck, J.D. Hahn, and M. Kramer: Aspects of androgen-dependent events as studied by antiandrogens. Laurentian Hormone Conference, Mont Tremblant 1969. Recent Progr. Hormone Res. 26, 337 (197o)

Neumann, F., W. Elger und R. von Berswordt-Wallrabe: Aufhebung der Testosteronpropionat-induzierten Unterdrückung des Vaginal-Zyklus und der Ovulation durch ein antiandrogen wirksames Steroid an Ratten. Acta endocr. (Kbh.) 52, 63-71 (1966)

Neumann, F., W. Elger, H. Steinbeck und R. von Berswordt-Wallrabe: Antiandrogene. 13. Symp.Dtsch.Ges. für Endokrinologie, Würzburg 1967. In: Klein, E. (ed.), Das Testosteron - Die Struma, Springer-Verlag Berlin, S. 78-1o1 1968.

Neumann, F., M. Kramer und K. Junkmann: Tierexperimentelle Untersuchungen mit 17α-Äthinyl-19-nor-Testosteronacetat.
Med.exp. (Basel) 11, 1-36 (1964)

Nicholas, J.S.: Experimental Methods with rat embryos.
In: Griffith and Farris (eds.): The rat.
Lippincolt, Philadelphia 1942

Odendaal, W.A.: A study of the quantitative interaction between oestrin and progestin in the rat.
S. Afr. J. Med. Sci. 9, 131-142 (1944)

Parkes, A.S.: Marshall's Physiology of Reproduction, Vol. II/III, Longmans, Green & Co. London-New York-Toronto 1966

Parkes, A.S., and C.W. Bellerby: Studies on the internal secretions of the ovary. II. The effects of injection of the oestrus producing hormone during pregnancy.
J. Physiol. (Lond.) 62, 145-155 (1926)

Pincus, G., and R.E. Kirsch: The sterility in rabbit produced by injections of oestrone and related compounds.
Amer.J.Physiol. 115, 219-228 (1936)

Sas, M., B. Resch, L. Kosaks,und F.E. Szontagh: Die Wirkung ovulationshemmender Steroide auf die einzelnen Phasen des Fortpflanzungsprozesses bei Kaninchen (postovulatorische Hemmwirkung).
Endokrinologie 51, 17o-174 (1967)

Schofield, B.M.: The effect of injected oestrogen on pregnancy in the rabbit.
J. Endocr. 25, 95-1oo (1962)

Scipiades, E.: Effect of testosterone injections upon the course of pregnancy in unoperated and in castrated rats.
Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 37, 242-244 (1937)

Smith, M.G.: On the interruption of pregnancy in the rat by the injection of ovarien follicular extract.
Bull.Johns Hopkins Hosp. 39, 2o3 (1926)

Stucki, J.C., and A.F. Forges: Pregnancy maintanance and the inhibition of partunition in rats with 17α-hydroxyprogesterone esters: The role of oestrogenic and endrogenic activity.
Acta endocr. (Kbh.) 33, 73 (196o)

Suchowsky, G.K. und K. Junkmann: Die Erhaltung der Schwangerschaft durch verschiedene gestagene Steroide.
5. Symp.Dtsch.Ges. Endokrinologie S. 3o8-312. Springer-Verlag Heidelberg 1958

van Wagenen, G., and A.H. Morse: Estrogen tolerance in pregnancy.
Yale J. Biol. Med. 17, 3o1-3o9 (1944)

Zeiner, T.N.: Studies on the maintenance of pregnancy in the white rat.
Endocrinology 33, 239-249 (1943)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. M. Kramer danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Förderung dieser Arbeit.

Herr Priv.-Doz. Dr. med. vet. F. Neumann, der Abteilungsleiter der experimentellen Endokrinologie des Hauptlaboratoriums der Schering AG, Berlin, hat die Dissertation betreut und durch zahlreiche wissenschaftliche Gespräche, fachlichen Rat und mancherlei Hinweise gefördert. Ihm danke ich auf das herzlichste.

Für die Mithilfe bei der Durchführung der Versuche und Bearbeitung des histologischen Materials danke ich Frl. Vaupel und Frau Stock; Frl. Wackernagel gilt mein Dank für das Schreiben des Manuskriptes.

Der Firma Schering AG, Berlin, danke ich für die finanzielle Unterstützung meiner Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 1o. Mai 1943 wurde ich, Fritz Olaf Harder, in Bad Polzin, Pommern geboren. Nachdem meine Eltern im Verlauf des Krieges 1944 starben, wurde ich von meiner Verwandten,Frau Christa Heine, erzogen.

Ab. 1949 besuchte ich zunächst die Grundschule in Berlin-Friedenau, ab 1956 war ich Schüler am Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Zug des Rheingau-Gymnasium Berlin. Im März 1963 schloß ich meine Schulausbildung mit dem Abitur ab.
Im Sommersemester 1963 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin, das ich mit der ärztlichen Prüfung am 8. August 1969 abschloß.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33, Garystr. 45